

Aus dem Hygiene-Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Ehemaliger Direktor: Prof. Dr. H. Kiewe)

Der Grenzwert des maximalen Porendurchmessers von Ganzglasbakterienfiltern für die Sterilfiltration

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

M. REDJAI

Esfahan/Iran

Mainz 1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026



Aus dem Hygiene - Institut
der Johannes Gutenberg-Universität M a i n z
(ehemaliger Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe)

DER GRENZWERT DES MAXIMALEN PORENDURCHMESSERS
VON GANZGLASBAKTERIENFILTERN FÜR DIE STERILFILTRATION

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
der
Hohen medizinischen Fakultät
der
Johannes Gutenberg - Universität Mainz

vorgelegt von
M. Redjai
Esfahan/ Iran
Mainz
1965

Dekan: Prof. Dr. Kortling

Referent: Prof. Dr. Kliewe

Inhaltsverzeichnis

- A Vorbemerkung
- B Entwicklung der Bakterienfilter
- C Experimentelle Grundlagen der Bakterienfiltration
 - a) Filtergeräte
 - b) Filterporenweite
 - c) Bakteriengröße
- D Eigene Versuche
 - a) Aufgabestellung
 - b) Methodik
 - 1. Testkeime
 - 2. Keimzahlbestimmung
 - 3. Filter
 - 4. Reinigung der Filter
 - 5. Durchführung der Versuche
 - c) Versuche mit 3 G 5 - Glasfiltern bei fraktionierter Filtration und Ergebnisse
 - d) Versuche mit 11 G 5 - Glasfiltern bei fraktionierter Filtration und Ergebnisse
 - e) Versuche mit 11 G 5 - Glasfiltern bei kontinuierlicher Filtration und Ergebnisse
 - f) Versuche mit 25 G 5 - Glasfiltern bei fraktionierter Filtration und Ergebnisse
 - g) Versuche mit Corning - Glasfiltern bei fraktionierter Filtration und Ergebnisse
 - h) Filtration 48 std. S. marcescens - Bouillonkulturen mit G 5 sowie Corning - Glasfiltern und Ergebnisse
 - i) Filtrationsversuche mit Erdbazillen - Kulturen und Ergebnisse
 - k) Filtrationsversuche mit tensid-haltigen Bakterien-suspensionen und Ergebnisse
 - l) Durchwachsungsversuche von G 5- sowie Corning-Glasfiltern und Ergebnisse
- E Besprechung der Ergebnisse
- F Zusammenfassung
- G Literaturverzeichnis

A Vorbemerkung

In den letzten Jahren ist die Forderung, Arzneilösungen für Infusionen und Injektionen pyrogenfrei in den Handel zu bringen, eindringlich erhoben worden und wird von den Arzneimittelherstellern angestrebt.

Als Pyrogene wirken vorwiegend Endotoxine gramnegativer Bakterien, die in genuinem Zustand an der Oberfläche der Bakterienzelle fixiert sind und deren Anteil 5 - 10 % der Gesamtmasse des Bakteriums beträgt. Lange Zeit war man sich über die Natur und den Ursprung dieser Fieberstoffe im Unklaren. Erst SEIBERT und Mitarbeiter konnten in den Jahren 1923 - 1925 den Nachweis erbringen, daß es sich um bakterielle Stoffwechselprodukte handelt. Die Identität dieser bakteriellen Pyrogene mit den antigenen Endotoxinen gramnegativer Bakterien wurde von MORGAN bewiesen, dem Arbeitskreis um WESTPHAL gelang schließlich die Aufklärung einer Reihe wichtiger biologischer, chemischer und physikalisch-chemischer Fragen.

Die Zerstörung von Pyrogenen ist nur begrenzt möglich. Ihre Beseitigung durch Erhitzen auf 200°C beschränkt sich auf wenige thermostabile Arzneilösungen. Ähnlich verhält es sich bei ihrer chemischen Zerstörung durch Zusatz von Oxydantien oder Alkalisierung sowie Säurehydrolyse. Für die Anwendungspraxis besitzt die Eliminierung der Pyrogene aus Lösungen mit Hilfe von Adsorptionsmitteln die größte Bedeutung. Bei Anwesenheit niedrig dosierter Wirkstoffe ist auch dieses Verfahren wegen der zwangsläufigen Verluste nur bedingt einsetzbar. Arzneimittel für Injektionen und Infusionen sowie ihr meist verwendetes Lösungsmittel Aqua dest. einschließlich Glasgefäße müssen deshalb vor ihrem Gebrauch pyrogenfrei sein. Die Grundvoraussetzung für das Lösungsmittel ist eine einwandfreie Destillation und umgehende Sterilisation, weil die bei erneutem Keimbefall gebildeten Pyrogene durch spätere Hitzeesterilisation nicht zerstört werden.

So wies z.B. HERMANN in 1 ml unsteril aufbewahrtem Aqua dest. bis zu 1,2 Millionen Keime kulturell nach. Andere Keimzählungen haben bis zu 6 Millionen Keime in 1 ml Aqua dest. ergeben (MÜLLER). Die Sterilisation kann durch Hitze oder Filtration erfolgen. Der Vorteil des letzteren besteht darin, daß eventuell bei der Destillation mitgerissene oder durch Unsauberkeit der Apparatur ins Destillat gelangte Keime entfernt werden und als Pyrogene nicht mehr in Betracht kommen können.

B ENTWICKLUNG DER BAKTERIENFILTER

Die ersten brauchbaren Bakterienfilter wurden von PASTEUR hergestellt. Es handelte sich um Porzellanfilterkerzen, die später nach CHAMBERLAND benannt wurden. Ihr Nachteil war, daß sie bei ständigem Gebrauch an Durchlässigkeit verloren. NORDTMAYER empfahl deshalb als Filtermaterial gebrannte Infusorienerde. Hieraus entwickelten sich die BERKEFELD-Filter, deren größere Leistungsfähigkeit Trinkwasserfiltration gestattete. Ihr Filtereffekt beruht überwiegend auf einer Keimadsorption. Nach Ausbildung einer Kolloidschicht an den Porenwänden können Keime die relativ weiten Poren des Filtermaterials ungehindert passieren.

Neben den Angaben über die Verwendung dieser Hartfilter findet man in der Literatur zahlreiche Hinweise über selbsterzustellende Bakterienfilter. Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang lediglich das von KNORR angegebene Kieselgurfilter. HESSE sowie HEIM waren die Ersten, die brauchbare Asbestfilter anfertigten. Hieraufaufbauend hat SCHMITTHENNER in den Seitz-Werken die Seitzfilter entwickelt. Ihre Hauptanwendungsgebiete sind Filtration von Obstsäften, Wein und stark eiweißhaltigen Flüssigkeiten wie z.B. Serum. Hierbei muß aber mit Adsorptionsverlusten gerechnet werden. CHOPRA und ROY stellten fest, daß verdünnte Lösungen von Saponin und Zyclamin ihre hämolytischen Eigenschaften durch die Seitz-Filtration verlieren. Ebenso tritt ein Wirkungsverlust bei Filterung bakterieller Hämolysine und Toxine ein und verdünntes Komplement wird inaktiviert. Neben Adsorptionsverlusten besteht ein weiterer Nachteil in ihrer Alkaliabgabe. Bei der Filtration von 1 l Aqua dest. durch eine Seitzfilterschicht von 6 cm Durchmesser beträgt die zur Neutralisation notwendige Menge 3,92 ml n/10 HCL. Alkaliempfindlichen Substraten soll deshalb vor der Filtration 1-2 Tropfen n/10 HCL auf je 10 ml zugesetzt werden (SCHWENKE). Störend wirkt ferner die Abgabe feinsten Asbestfaserteilchen, die anschließend durch

Glasfilter entfernt werden müssen (BERRY, WHITE).

Als weiteres Filtermaterial haben sich Eisessig-Kolloidum-Membranen nach BECHHOLD und Gradocol-Membranen von ELFORD bewährt. Neben diesen Filtern werden heute vor allem Filter-Membranen aus Gallerten hergestellt, deren Gerüstsubstanzen als Zelluloseester bzw. aus Zellulose bestehen. Ihre Porösität ist in den weitesten Grenzen variierbar. Sie haben deshalb in der Mikrobiologie, Chemie, Biochemie, Wasser-, Getränke- und Nahrungsmittelhygiene weite Verbreitung gefunden. Der Filtereffekt beruht auf einer Siebwirkung. Um ein Passieren von Keimen zu vermeiden, wurde zunächst eine Porenweite von $0,75 \mu$ empfohlen. Nach SCHMIDT-LANGE und HEPP bietet dieser Wert keine Sicherheit. Sie empfehlen eine Porenweite von $0,3 \mu$. Problematisch war die Sterilisation von Membranfiltern, die nicht thermisch erfolgen kann. Heute wird hierfür die Äthylenoxysterilisation eingesetzt.

Die ersten bakteriendichten Glasfilter wurden 1935 hergestellt, obwohl auf Glaspulver als Filtermedium bereits 1854 von SCHRÖDER und v. DUSCH hingewiesen worden ist. PRAUSNITZ verwandte als Glasfilter zusammengesinterte Glaskörnchen, die als Glasfilterplatten in Glasmänteln randdicht eingeschmolzen werden konnten. Diese Ganzglasfilter werden von den Jenaer-Glaswerken mit Durchmessern von 10-120 mm als Filternutschen oder Druckfilter hergestellt. Von jedem Filter wird die maximale Porenweite und Filtrationsleistung geprüft. Entsprechend dem Porendurchmesser unterscheidet man 3 Gruppen mit den Bezeichnungen g, m und f (g entspricht einer Porenweite von $3,0 - 1,7 \mu$, m von $1,7 - 1,0 \mu$ und f unter $1,0 \mu$). Bei Filtration schwebstoffarmer Lösungen lassen sich etwa 4-5 l/h Sterilfiltrat erzielen. Für die pharmazeutische Industrie sind spezielle Geräte entwickelt worden mit einer Tagesleistung von etwa 100 - 150 l.

WETZLHARDT berichtet über die Eignung von Ganzglasbakterienfiltern für biologische Arbeiten mit Hefe.

BACH verwandte sie zur Gewichtsbestimmung und untersuchte gravimetisch die Vermehrung von *Staphylococcus aureus*. CHRISTIANSEN prüfte die Sterilität von Filtraten dichter Keimaufschwemmungen von *S. marcescens*, *Br. melitensis*, *Ps. fluorescens* und *Bac. mesentericus*. MORTON und CZANETZKY wählten die Testbakterien *E. coli*, *Sh. dysenteriae*, *S. typhi*, *S. marcescens*, *C. diphtheriae*, *H. influenzae*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus albus*, *Streptococcus hämolyticus* und Cholera-Vibrionen. HOFMANN bestätigte die Sterilfiltration. Brauchbar erwiesen sich Glasfilter ferner für die Abtrennung von Ruhrphagen sowie für die Gewinnung von Tetanus-Toxin (MORTON). Günstige Filterergebnisse ohne wesentliche Virusverluste erhielten van ROOYEN und RHODES. Durchwachsungsversuche ergaben, daß sie in 9 bzw. 14 Tagen durchwachsen werden. Die Vorzüge der Ganzglasbakterienfilter bestehen nach BERRY in den geringen Flüssigkeitsverlusten bei der Filtration, in dem randdichten Abschluß der Filterplatten und in der chemischen Reinigung ohne Änderung der Porenweite. MILNE sowie THOMANN untersuchten Ganzglasbakterienfilter auf ihre Verwendbarkeit in der Pharmazie. Es konnten weder pH-Wert-Änderungen noch Säureverluste festgestellt werden. Bei der Filtration von Morphin-Strychnin- sowie Coffein-Natriumsalicylicum-Lösungen traten keine Substanzen-Verluste ein. Langdauernde Filtrationen im Vacuum können jedoch eine minimale Konzentrationszunahme auslösen. Filtrate einer bakterienverunreinigten Traubenzuckerlösung blieben steril.

Auch SCHWENKE, SANDERS, CORTI, ROSSI und DARTUGUE sowie WARNER, BRINKHOUS, SEEGERs und SMITH erzielten bei der Sterilfiltration von Arzneilösungen durch Ganzglasfilter einwandfreie Resultate. VINCKE und NEVER empfahlen deshalb die Filtration zur Sterilisation von Blutersatzflüssigkeiten.

Für die Sterilfiltration von Aqua dest. ist von KNÖLL ein Filtrationsgerät mit Glassinterfiltern entwickelt worden.

C EXPERIMENTELLE GRUNDLAGEN DER BAKTERIENFILTRATION

Jede Filtration besteht in einer Abtrennung von Teilchen aus ihrem Medium durch geeignetes poröses Material. Die Bakterienfiltration nimmt im Rahmen der gesamten Filtrationsprobleme eine Sonderstellung ein, weil sie extreme Anforderungen stellt. Ein einziger Keim, der das Filter passiert, kann sich bei Vorliegen günstiger Bedingungen in kurzer Zeit im Filtrat vermehren. Um eine Filtratssterilität zu erreichen, müssen deshalb nachstehende Fehlermöglichkeiten berücksichtigt werden:

1. Filtergerät: Dichte der Verschlüsse
2. Filter: Porenweite, Verteilung der Porengröße (Porenstatistik), Filterdicke (Länge der Poren), Porenstruktur, Filtermaterial, chemisch-physikalische und chemische Eigenschaften.
3. Bakterien: Keimgröße, Keimzahl, -alter, Vermehrungsfähigkeit, Beweglichkeit, Ladungssinn, Adsorbierbarkeit, Haftfähigkeit.
4. Suspensionsflüssigkeit: Menge, Viskosität, Kapillartätskonstante, Gehalt an Nährstoffen, an Substanzen, die das Filter elektrisch umladen, an Netzmitteln, an Schutzkolloiden.
5. Filtrationsbedingungen: Filtrationsdauer, Filtrationsdruck, insbesondere Druckstöße, Temperatur.
6. Filtratgewinnung und Verarbeitung: Nachweis der Filtratsterilität, Fremdinfection.

Zwischen den hier aufgeführten Faktoren bestehen enge Zusammenhänge und ihre gegenseitige Beeinflussung ist so groß, daß sie zum Teil nur zusammen besprochen werden können.

a) FILTERGERÄTE

Sämtliche Filtergeräte, in denen das Filtermaterial in Glas oder Metall eingekittet ist, sind von bakteriologischer Seite mit Vorsicht zu betrachten. Man muß stets an der Kittstelle mit Rissen rechnen, durch die Keime bei der Filtration durchtreten können. Begünstigt werden Risse bei der thermischen Sterilisation, wenn das Filtermaterial, die Kittmasse und der Filterträger unterschiedliche Ausdehnungskoeffizienten haben. Diese Gefahr bleibt selbst bei sorgsamster Behandlung des Filtermaterials und weitgehendster Übereinstimmung der Ausdehnungskoeffizienten erhalten. Bei Verwendung von Filtermembranen und den Seitz-Entkeimungsschichten sind stets zwischen dem Filtergerät und der eingespannten Filterschicht Stoßstellen vorhanden. Für Filtermembranen versucht man diesen Fehler auf ein Minimum zu reduzieren, indem man das Filter zwischen plangeschliffenen Filterträgern einspannt, die durch eine schraubenartige Überwurfmutter aufeinandergepreßt werden. In ähnlicher Weise erfolgt die Befestigung von Seitz-Filtern. Werden mit diesen Materialien Vacuum-Filtrationen durchgeführt, so besteht die Möglichkeit, daß keimhaltige Flüssigkeit an undichten Stellen der oberen Filterkante heraustritt und an der unteren wieder durch die Vacuumwirkung eingesaugt wird. Bei einer Druckfiltration ist zwar die Möglichkeit des Flüssigkeitsaustritts an der oberen Filterverspannung größer, aber es besteht andererseits weniger Gefahr, daß das Material in das Filtrataufnahmegefäß gelangt, weil kein Unterdruck darin enthalten ist. Diese Fehlerquellen haften G anzglasbakterienfiltern in Form von Nutschen nicht an.

Neben den genannten Infektionsmöglichkeiten bestehen bei einer Vacuumfiltration noch weitere und zwar, wenn nach Abschluss der Filtration in das evakuierte Filtrataufnahmegesäß Luft einströmt. Um hierbei Verunreinigungen durch Luftkeime zu vermeiden, werden im allgemeinen die

Saugstutzen mit festgestopfter Watte versehen. Dadurch können aber wiederum Wattefaser mitgerissen werden, die sich im Filtrat störend bemerkbar machen. Um dies zu vermeiden, ist empfohlen worden, zusätzlich ein Glasfilter einzubauen, dessen Filterplatte als Auflage und Faserfänger für den Wattestopfen dient.

b) FILTERPORENWEITE

Die Forderung, jeden Keim bei der Filtration mit Sicherheit zurückzuhalten, stellt erhebliche Anforderungen an die maximale Porenweite im Filtermedium. Erlaubt in einem Filtermaterial eine einzige Pore das Durchtreten eines Keimes, dann ist die Bakterienundurchlässigkeit des übrigen Porensystems zwecklos. Dies bedeutet, daß jedes einzelne Bakterienfilter sorgfältig auf seine maximale Porenweite untersucht werden muß. Die Bestimmung der maximalen Porenweite ist nur an Filtern mit weitgehend starrer Struktur möglich. Einbeziehen kann man hierin noch die Membranfilter. Bei ihnen ist zwar das Porensystem deformierbar, aber unter normaler Beanspruchung hinreichend konstant. Diese Filter gestatten die Bestimmung der maximalen Porenweite nach einem ursprünglich von BARUS und dann von BECHOLD sowie von BIGELOW und BARTELL angegebene Verfahren. Für Lockerfilter, bei denen eine Änderung der Porenweite möglich ist, kann diese Methode nicht angewendet werden. Außer der Sterilität wird in der Praxis noch eine große Filtratleistung angestrebt. Diese hängt von der Größe der filtrierenden Fläche ab und von der Porenweite. Ein Optimum wird dann erreicht, wenn die mittlere Porenweite weitgehend der maximalen Porenweite entspricht. Die mittlere Porenweite läßt sich nach dem Hagen-Poiseuille'schen Gesetz errechnen und ist der Durchschnittswert sämtlicher Poren. Zur Bestimmung der Porenweite hat ERBE eine Methode ausgearbeitet, die auch heute noch angewendet wird, obwohl ihr, wie MANEGOLD, KOMAGATA und ALBRECHT sowie MANEGOLD und SOLF nachgewiesen haben, Fehler anhaften.

c) BAKTERIENGROSSE

Es war naheliegend, daß man, um ein steriles Filtrat zu erhalten, zunächst die Porenweite eines Filters mit der Größe der abzufiltrierenden Teilchen verglich. Leider lassen sich jedoch weder die Keimgröße noch die Filterporenweite exakt bestimmen. Die aus dem Blasendruckwert eines Filters errechnete maximale Porenweite kann nicht als eine reale Längenangabe aufgefaßt werden. Die Natur des Blasendruckverfahrens bringt es mit sich, daß der für einen Porendurchmesser errechnete Wert kleiner als in Wirklichkeit ist. Das Vorliegen unregelmäßig gestalteter Hohlraumssysteme als Poren und nicht zylindrischen Kapillaren, erhöht noch die Bedenken, die bei rein längenmäßigen Vergleichen zwischen dem Porendurchmesser und der Größe des abzufangenden Teilchens bestehen. Maximale Porenweiten feinsten Einzelkapillaren, die mikroskopisch und mit der Blasendruckmethode ausgemessen worden sind, lassen den Faktor, mit dem die aus den Blasendruckwerten errechneten Durchmesser zu multiplizieren sind, um größenordnungsmäßig übereinstimmende Angaben zu erhalten, auf einen Wert zwischen 1 und 2 einschätzen. Die Größenbestimmung von Bakterien bereitet ebenfalls große Schwierigkeiten, weil die Größe einzelner Keime selbst innerhalb der Population stark schwankt. SCHMIDT-KEHL hat sich mit der Frage beschäftigt, inwieweit kleinste Bakterien bei der Filtration eine Rolle spielen können. Als Keim wählte er *E. coli*. Um mechanisch eine Trennung zwischen kleinen und großen Bakterienformen vorzunehmen, versuchte er, die letzteren durch Zentrifugieren abzuschleudern. Es zeigte sich hierbei, daß zwar kleine Formen im Überstand gefunden werden, aber ihre Zahl gering ist. Mit diesem Verfahren konnten Einzelkeime isoliert werden, deren Größe etwa $0,3\mu$ beträgt. Sie scheinen die Filtratsterilität nicht zu gefährden, weil sich sofort nach Beginn der Filtration auf der Filteroberfläche ein stärker werdender Filterkuchen aus Bakterien bildet, der seinerseits eine Filterwirkung besitzt und kleinste Einzelorganismen zurückhält.

Können kleinste Elemente vor der Bildung des Filterkuchens in eine Pore, so werden sie dort absorbiert. Trotz dieser Feststellung wählt man zur Filterprüfung möglichst kleine Testkeime, die einerseits nicht als Luftinfektionen in Frage kommen und andererseits sich leicht im Filtrat nachweisen lassen. Als einer der günstigsten Prüfkeime wird deshalb *Serratia marcescens* (Bact. prodigiosum) angesehen, weil es hinreichend klein und leicht durch seine Farbstoffbildung nachzuweisen ist. Es muß jedoch auf eine Beobachtung von FROLA hingewiesen werden, der feststellte, daß durch Filtration *S. marcescens* vorübergehend seine Eigenschaft der Farbstoffbildung verlieren kann. Auch KNÖLL erwähnt dieses Phänomen. Je grobporiger ein Filter ist, desto geringer wird die Farbstoffbildung der filtrierten Keime beeinflusst. KNÖLL vermutet, daß der zeitweilige Verlust der Farbstoffbildung darauf beruht, daß kleine, nicht vollwertige Keime das Filter passieren, die erst in ihrer späteren Entwicklung und Teilung wieder normale Farbstoffbildung zeigen. Neben *S. marcescens* sind verschiedentlich noch Wasserspirillen verwendet worden. Aufgrund ihrer schwierigen Züchtung und langsamen Vermehrung haben sie sich jedoch nicht bewährt.

D E I G E N E V E R S U C H E

a) AUFGABESTELLUNG

Die früheren Jenaer Ganzglasbakterienfilter waren Doppelschichtfilter. Auf einer als Trägerplatte dienenden Schicht mit einer Porenweite von $15-40\ \mu$ war eine dünne bakteriendichte Schicht aufgesindert, deren Porosität die Bezeichnung 5 g (grob, $3,0-1,7\ \mu$), 5 m (mittel, $1,7 - 1,0\ \mu$) oder 5 f (fein, unter $1,0\ \mu$) trug. Diese Kennzeichnung ist bis heute beibehalten worden. Durch die Verwendung der Trägerplatte ließ sich die Bakterienfilterschicht bei guter mechanischer Widerstandsfähigkeit gegen die bei der Filtration auftretenden Druckdifferenzen von einer Atmosphäre Über- oder Unterdruck relativ dünn halten. Diese Ganzglasfilter werden als Platten vorgeformt in Glasmäntel eingeschmolzen. Für die Sterilfiltration erwies sich bisher die maximale Porenweite von $1,7\ \mu$ als Grenze, die nicht überschritten werden durfte. Die heute hergestellten Glassinterfilter der Jenaer Glaswerke und der Corning Glass Works, New York, bestehen nur noch aus einer Filterschicht. Es erhebt sich hierbei die Frage, ob der früher empirisch ermittelte Grenzwert von $1,7\ \mu$ auch heute noch für die Einsicht - filter Gültigkeit besitzt und ein sicheres Sterilfiltrat liefert. Jede Änderung des Aufbaues einer Filterschicht kann ungünstige bakteriologische Resultate zur Folge haben; denn die Berechnung des Porendurchmessers ist kein Kriterium. Es handelt sich nur um Annäherungswerte, weil eine exakte Berechnung kreisrunde Filterporen voraussetzt. Diese Bedingung wird von Glasfiltern nicht erfüllt. In diesem Filtermaterial sind aber die Poren nicht kreisförmig. Andererseits weiß man, daß auch Filter mit einer größeren Porenweite als der Keimdurchmesser steril filtrieren. Es muß deshalb für jede neue Filterart empirisch eine Beziehung zwischen dem physikalisch gemessenen Wert und der Fähigkeit steril zu filtrieren, aufgestellt werden.

Eine bakteriologische Prüfung jedes Filters ist

fabrikationstechnisch nicht möglich. Außerdem beweist eine einmalige Sterilfiltration nicht, daß das Filter stets steril filtrierte. Für die Praxis bietet sich daher nur der Weg an, bakteriologisch zu ermitteln, welcher Porendurchmesser mit Sicherheit steril filtrierte; sämtliche Filter, deren - nach der gleichen Methode bestimmte - Porendurchmesser diesen Grenzwert überschreiten, nicht für Sterilfiltrationen einzusetzen.

In den vorliegenden Untersuchungen soll bakteriologisch geprüft werden, ob auch die neuen Ganzglasbakterienfilter der Jenaer Glaswerke und der Corning Glass Works, New York, bei der Bakterienfiltration bis zu einem aus der Blasendruckmethode errechneten Porendurchmesser von $1,7 \mu$ selbst unter extremen Bedingungen sterile Filtrate liefern.

b) Methodik

1 TESTKEIME

Als Testkeime dienten:

1. *Serratia mercenscens*
2. Erdbazillen

Für die Filterprüfung wurden 24-stündige *S. marcescens*-Bouillon-Kulturen und Abschwemmungen von 24-stündigen Schrägagarkulturen verwendet.

Die Suspensionsflüssigkeit bestand aus 0,85 %iger NaCl-Lösung oder Nährbouillon und - soweit es die Versuche erforderten- aus Aqua dest. mit Zusätzen anionischer und nicht ionogener grenzflächenaktiver Verbindungen.

Die Erdbazillen wurden als 10-tägige gut sporulierte Thioglykolat-Bouillon.Kulturen in den Filterversuchen eingesetzt.

2 KEIMZAHLBESTIMMUNG

Die Keimzahlbestimmung der in den Filterversuchen benötigten Bouillonkulturen bzw. Suspensionen erfolgte stets nach zwei Methoden:

- a) Direkte Bestimmung mittels Zählkammer und Phasenkontrastmikroskop unter Auszählung von 50 kleinsten Quadraten mit je $1/400\text{-stel mm}^2$ und Berechnung der Bakterienzahl in 1 ml nach der Gleichung $D \times 400 \times 100 \times 1000$, wobei D den Mittelwert der Keime aus 50 Quadraten der Zählkammer darstellt.
- b) Gesamtkeimzahlbestimmung nach dem Plattenzählverfahren in Nähragaraußkulturen. Hierzu wurden aufsteigende Verdünnungsreihen von den Bouillonkulturen bzw. Suspensionen hergestellt und von jeder Verdünnungsstufe 1 ml in sterilen Petrischalen mit 15 ml verflüssigten auf 45°C abgekühlten Nähragar durchmischt. Nach 48-stündiger Bebrütung bei 37°C wurden die entwickelten Kolonien ausgezählt und mit dem Verdünnungsfaktor der Verdünnungsstufe multipliziert, um die Ausgangskeimzahl zu ermitteln.

Die Einstellung auf die gewünschte Keimzahl mußte in jedem Versuch zunächst nach den Ergebnissen der Keimzählungen vorgenommen werden. Die Keimzahlbestimmung nach dem Plattenzählverfahren, deren Resultat erst 48 Stunden später zur Verfügung stand, diente zur Kontrolle. Bestanden zwischen beiden Methoden Abweichungen von über 20%, so wurde der Versuch wiederholt. Auf eine statistische Sicherung der Keimzahlbefunde mußte verzichtet werden.

5 FILTER

Folgende Filtergrößen wurden auf ihre Sterilfiltration geprüft:

Nr.	Inhalt	Flattendurch-	Höhe über der
	ml	messer mm	Platte mm
<u>Jenaer Glasfilternutschen</u>			
3 G 5	50	35	45
11 G 5	60	40	45
17 G 5	125	60	45
25 G 5	500	95	75
<u>Corning Glasfilternutschen</u>			
-	80	32	60

4 REINIGUNG DER FILTER

Die Reinigung der Filter erfolgte sofort nach Gebrauch. Sie wurden zunächst durch Abspritzen der Filteroberfläche mit scharfem Wasserstrahl und nachfolgendem Durchspülen mit Aqua dest. vorgesäubert. Anschließend kam zur Zerstörung der abfiltrierten organischen Substanzen wie Bakterien usw. 100°C heiße konzentrierte Schwefelsäure, der etwas KNO_3 bzw. eine Mischung von $\text{NaCO}_3 + \text{NaClO}_4$ zugesetzt worden war, in etwa 3 - 5 mm hoher Schicht auf das Filter. Wurden diese frühzeitig wieder benötigt, ist die Säure nach Aufsetzen des Filters auf eine Waschflasche abgesaugt worden, im anderen Fall wurde die Säure lediglich bis die ersten Tropfen auf der Filterunterseite erschienen, angesaugt und die übrige Säure nach 18-20 Stunden entfernt. Die im Filter verbliebenen Säurereste sind mit Aqua dest. durch Filtration unter Vakuum ausgewaschen worden, bis das Filtrat in salzsäurer Bariumchloridlösung keine Trübung mehr zeigte. Nach starker Verstopfung der Filter mit organischem Material war es notwendig, die Reinigung zu wiederholen, um die ursprüngliche Filterleistung zu erhalten.

5 DURCHFÜHRUNG DER FILTERVERSUCHE

Die Filterversuche wurden mit dem von Knöll entwickelten Filtrationsgerät durchgeführt. Es handelt sich hierbei um eine Filtrationsglocke, die an ihrem unteren Ende ein Schraubengewinde aus Glas und einen Absaugstutzen mit einer geeignet geformten Kugel für ein Wattefilter und anschließender Olive zur Verbindung mit der Wasserstrahlpumpe besitzt. Verschllossen wird die Filtrationsglocke durch eine metallene Schraubenkappe, die eine plane Metallplatte unter Verwendung eines Gummidichtungsringes gegen den plangeschliffenen Rand der Glasglocke preßt. Die einzelnen Filternutschen wurden mit ihrem Stiel randdicht in einen durchbohrten Gummistopfen eingeschoben und in die obere konische Öffnung der Filtrationsglocke gepreßt, um jeden seitlichen Luftzutritt während der Filtration zu verhindern.

Zur Filtrataufnahme dienten 100 bzw. 200 ml fassende flaschenförmige Gefäße, die nach Abschrauben der unteren Metallkappe in die Filtrationsglocke eingeschoben wurden, sodaß der Stiel der Filternutsche in das Auffanggerät hineinragte.

Um die Sterilität des Filtrates prüfen zu können, sind in den Versuchen, in denen die abzufiltrierenden Keime in 0,85%iger NaCl-Lösung suspendiert waren, die Auffanggefäße vor der Filtration entsprechend der Filtratmenge mit doppelt konzentrierter Bouillon gefüllt worden. Handelte es sich um Filtrationen infizierter Bouillon oder Thioglykolatbouillon, wurden dieselben Nährlösungen in Gebrauchskonzentration in die Auffanggefäße gegeben. Vor jedem Versuch sind die benötigten Filtrationsglocken mit aufgesetzten Glasfilternutschen und die mit Nährlösung gefüllten Auffanggefäße im Autoklaven sterilisiert worden. Nach beendeter Filtration und Abschalten von der Vakuumleitung wurden die Verschlussplatten der Filtrationsglocken abgeschraubt, die Auffanggefäße, um sekundäre Luftverunreinigungen zu vermeiden, unter Schutz der Filtrationsglocke herausgenommen, ihr Kolbenhals abgeflammt und mit einer sterilen Kapsenber-Kulturkappe verschlossen. Zur Sterilitätsprüfung sind die Filtrate mit ihren Nährlösungen für den Nachweis aerober Keime 12 Tage und für Anaerober 50 Tage bei 37°C bebrütet worden. Mit den verwendeten Nährlösungen wurde stets eine Wachstumskontrolle angelegt.

c) VERSUCHE MIT 3 G 5 -Glasfiltern bei fraktionierter Filtration

Die in Tabelle 1 und 2 aufgeführten Untersuchungen betrafen die Frage, ob Glasfilter der Sorte 3 G 5 mit einer maximalen Porenweite von 1,1 bis 1,8 μ S.marcescens-Aufschwemmungen in 0,85%iger NaCl-Lösung steril filtrieren. Die Keimzahlen wurden auf 1 Mill./ml (Tabelle 1) und 100 Mill./ml (Tabelle 2) eingestellt. Die Filtration der Keimsuspensionen erfolgte fraktioniert, um zu prüfen, ob bei einem eventuellen Keimdurchtritt die Keime sofort das Filtrat passieren oder erst nach längerer Filtrationsdauer.

Tabelle 1

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
3 bzw. 4 x 10 ml einer *S. marcescens*-Aufschwem-
mung in 0,85%iger NaCl - Lösung mit einer Keim-
zahl von 10^6 /ml durch Glasfilter 3 G 5 von
35 mm Durchmesser

Versuchs- Nr.	Filter- Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätskont- rolle nach 12 Tg.
				min	sec	
1	22560	1,1	10	2	55	-
			10	4	20	-
			10	5	30	-
			10	12	15	-
2	22561	1,15	10	2	1	-
			10	2	10	-
			10	2	10	-
			10	2	10	-
3	22557	1,15	10	1	35	-
			10	2	55	-
			10	2	55	-
			10	2	55	-
4	22556	1,15	10	1	19	-
			10	1	45	-
			10	2	25	-
			10	4	2	-
5	22558	1,2	10	1	47	-
			10	2	5	-
			10	3	1	-
			10	3	28	-
6	22564	1,3	10	0	55	-
			10	0	58	-
			10	1	15	-
			10	1	25	-
7	22565	1,3	10	1	55	-
			10	1	55	-
			10	2	1	-
			10	2	20	-
8	22555	1,3	10	1	10	-
			10	1	30	-
			10	1	45	-
			10	1	50	-
9	22563	1,35	10	1	36	-
			10	1	40	-
			10	1	55	-
			10	2	1	-
10	29824	1,8	10	1	9	-
			10	1	40	-
			10	2	18	+

Zeichenerklärung für Tabelle 1 und folgende Tabellen:

+ = Wachstum von *S. marcescens*

- = Kein Keimwachstum

Tabelle 2

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
2 bzw. 5 x 5 ml einer *S. marcescens*-Aufschwem-
mung in 0,85%iger NaCl-Lösung mit einer Keim-
zahl von 10^8 /ml durch Glasfilter 3 G 5 von
35 mm Durchmesser

Versuchs- Nr.	Filter- Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit min	Filtrations- zeit sec	Sterili- tätskon- trolle nach 12 Tg.
11	22560	1,1	5	32	55	-
			5	51	45	-
			5	0	42	-
12	22561	1,15	5	0	50	-
			5	0	52	-
			5	1	10	-
			5	2	10	-
13	22557	1,15	5	39	45	-
			5	81	30	-
14	22556	1,15	5	3	15	-
			5	4	35	-
			5	11	50	-
			5	18	45	-
15	22558	1,2	5	27	34	-
			5	26	1	-
			5	29	35	-
16	22564	1,3	5	50	55	-
			5	0	45	-
			5	0	51	-
			5	0	56	-
			5	0	58	-
			5	0	58	-
17	22565	1,3	5	1	43	-
			5	1	53	-
			5	2	10	-
			5	2	35	-
			5	2	55	-
18	22555	1,3	5	23	10	-
			5	70	25	-
19	22563	1,35	5	1	35	-
			5	2	10	-
			5	3	20	-
			5	10	38	-
			5	26	15	-

ERGEBNISSE

Aus Tabelle 1 und 2 ist ersichtlich, daß Glasfilter 3 G 5 bis zu einem maximalen Porendurchmesser von $1,35 \mu$ S. marcenscens-Suspensionen mit 1 Mill. und 100 Mill. Keime pro ml steril filtrieren. Die maximale Porenweite $1,8 \mu$ (Filter Nr. 29824) wurde von den Versuchskeimen passiert. Der Keimdurchtritt erfolgte jedoch erst bei der 3. aufeinanderfolgenden Filtration von je 10 ml. Über die Sterilfiltration der Porenweiten zwischen $1,35$ und $1,8 \mu$ bei 3 G 5 - Filtern können keine Angaben gemacht werden, weil Versuchsfilter mit diesen Porendurchmessern nicht zur Verfügung standen.

d) VERSUCHE MIT 11 G 5 - GLASFILTERN BEI FRAKTIONIERTER Filtration

Gleichermaßen wie die 3 G 5 - Filter wurden 11 G 5 - Filter mit maximalen Porenweiten von $0,85$ bis $1,6 \mu$ auf ihre Sterilfiltration geprüft. Die S. marcenscens-Keimzahlen betrugen in den Versuchen 25.000 (Tabelle 3), 100 Mill. (Tabelle 4), 200 Mill. (Tabelle 5) und 300 Mill. (Tabelle 6) pro ml. Die Filtration der Keimaufschwemmung mit 25.000/ml erfolgte in 15 aufeinanderfolgenden Fraktionen von je 10 ml, weil in diesen Keimzahlbereichen die Gefahr des Keimdurchtrittes am größten sein soll. Eine stärkere Bakterienablagerung auf der Filteroberfläche soll den Filtereffekt verbessern, weil die Bakterienmasse eine zusätzliche Filterwirkung entfaltet. In den übrigen Versuchen wurden 2- bis 5-mal je 10 ml filtriert.

Tabelle 3

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
15 x 10 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung
in 0,85%iger NaCl-Lösung mit einer Keimzahl
von $2,5 \times 10^4$ /ml durch Glasfilter 11 G 5 von
40 mm Durchmesser

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Foren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätskont- rolle nach 12 Tg.
				min	sec	
20	26082	0,85	10	5	12	-
			10	5	16	-
			10	5	30	-
			10	5	50	-
			10	6	30	-
			10	6	40	-
			10	7	0	-
			10	7	10	-
			10	8	20	-
			10	9	30	-
			10	9	30	-
			10	10	0	-
			10	10	35	-
			10	10	45	-
			10	10	45	-
21	26081	1,15	10	1	15	-
			10	1	20	-
			10	1	20	-
			10	1	20	-
			10	1	25	-
			10	1	25	-
			10	1	0	-
			10	1	30	-
			10	1	30	-
			10	1	32	-
			10	1	35	-
			10	1	40	-
			10	1	40	-
			10	1	4	-
			10	1	50	-
22	26080	1,25	10	1	25	-
			10	1	35	-
			10	1	40	-
			10	1	40	-
			10	1	45	-
			10	1	45	-
			10	1	45	-
			10	1	50	-
			10	1	50	-
			10	1	55	-
			10	1	55	-
			10	1	57	-
			10	2	0	-
			10	2	3	-
			10	2	5	-

Fortsetzung Tabelle 3

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg.
				min	sec	
23	26079	1,3	10	1	25	-
			10	1	45	-
			10	1	45	-
			10	1	47	-
			10	1	47	-
			10	1	47	-
			10	1	47	-
			10	1	47	-
			10	1	50	-
			10	1	50	-
			10	1	50	-
			10	1	50	-
			10	1	53	-
			10	1	55	-
			10	1	58	-
24	26078	1,35	10	2	1	-
			10	1	0	-
			10	1	6	-
			10	1	10	-
			10	1	15	-
			10	1	20	-
			10	1	22	-
			10	1	25	-
			10	1	30	-
			10	1	35	-
			10	1	40	-
			10	1	45	-
			10	1	50	-
			10	1	55	-
			10	2	0	-
25	26077	1,6	10	2	0	-
			10	0	50	-
			10	1	5	-
			10	1	0	-
			10	1	0	-
			10	0	57	-
			10	0	59	-
			10	1	1	-
			10	1	1	-
			10	1	2	-
			10	1	2	-
			10	1	2	-
			10	1	2	-
			10	1	2	-
			10	1	4	-
			10	1	5	-

Tabelle 4
 Untersuchungen über die Sterilfiltration von 2,
 3 bzw. 5 x 10 ml einer S. marcescens-Aufschwemmung
 in 0,85%iger NaCl-Lösung mit einer Keimzahl von
 10⁸/ml durch Glasfilter 11 G 5 von 40 mm Durchmesser

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit min	sec	Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg
26	26082	0,85	10	7	20	-
			10	21	30	-
			10	35	50	-
			10	50	13	-
			10	65	15	-
27	26081	1,15	10	3	5	-
			10	6	5	-
			10	14	47	-
			10	24	35	-
			10	34	23	-
28	26080	1,25	10	2	7	-
			10	4	33	-
			10	11	55	-
			10	24	14	-
			10	34	15	-
29	26079	1,3	10	2	3	-
			10	6	35	-
			10	15	33	-
			10	23	4	-
			10	33	7	-
30	26078	1,35	10	1	17	-
			10	2	22	-
			10	8	18	-
			10	19	46	-
			10	31	50	-
31	29827	1,35	10	5	48	-
			10	-	-	-
			10	6	59	-
32	29828	1,35	10	1	0	-
			10	1	26	-
			10	1	52	-
33	29829	1,35	10	13	7	-
			10	27	36	-
			10	51	15	-
34	29825	1,5	10	10	17	-
			10	52	27	-
35	29826	1,5	10	9	23	-
			10	22	7	-
			10	27	15	-
36	26077	1,6	10	0	53	-
			10	1	12	+
			10	1	15	+
			10	1	26	+
			10	1	37	+

Tabelle 5

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
2, 3 bzw. 5 x 10 ml einer S.marcescens-Auf-
schwemmung in 0,85% Na Cl - Lösung mit einer
Keimzahl von 2×10^8 /ml durch Glasfilter
11 G 5 von 40 mm Durchmesser

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätskont- rolle nach 12 Tg.
				min	sec	
37	26082	0,85	10	10	5	-
			10	24	50	-
			10	40	15	-
			10	58	45	-
			10	68	15	-
38	26081	1,15	10	2	27	-
			10	9	58	-
			10	20	44	-
			10	32	55	-
			10	40	5	-
39	26080	1,25	10	2	45	-
			10	6	49	-
			10	18	19	-
			10	29	27	-
			10	37	5	-
40	26079	1,3	10	1	49	-
			10	3	55	-
			10	10	5	-
			10	20	40	-
			10	31	20	-
41	26078	1,35	10	1	30	-
			10	2	21	-
			10	9	43	-
			10	23	30	-
			10	35	25	-
42	29827	1,35	10	1	36	-
			10	3	-	-
			10	5	25	-
			10	11	51	-
			10	26	55	-
43	29828	1,35	10	2	56	-
			10	18	34	-
			10	51	2	-
44	29829	1,35	10	15	56	-
			10	33	35	-
			10	50	52	-
45	29825	1,5	10	5	53	-
			10	23	50	-
			10	47	6	-
46	29826	1,5	10	21	33	-
			10	48	13	-
47	26077	1,6	10	1	0	-
			10	1	7	-
			10	1	18	+
			10	1	20	+
			10	1	30	+

Tabelle 6

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
4 x 10 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung
in 0,85%iger NaCl - Lösung mit einer Keim-
zahl von 3×10^8 /ml durch Glasfilter 11 G 5
von 40 mm Durchmesser

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit min	sec	Sterili- tätskont- rolle nach 12 Tg
48	26082	0,85	10	14	5	-
			10	52	45	-
			10	92	40	-
			10	120	48	-
49	26081	1,15	10	12	30	-
			10	39	30	-
			10	65	40	-
			10	95	15	-
50	26080	1,25	10	11	35	-
			10	45	3	-
			10	74	15	-
			10	85	30	-
51	26079	1,3	10	10	5	-
			10	37	55	-
			10	63	16	-
			10	78	40	-
52	26078	1,35	10	6	15	-
			10	35	5	-
			10	60	2	-
			10	73	52	-
53	26077	1,6	10	3	17	-
			10	32	55	+
			10	59	45	+
			10	75	19	+

ERGEBNISSE

Bei der Filtration der *S. marcescens*-Suspensionen mit 25.000 Keimen/ml durch Glasfilter 11 G 5 mit maximalen Porenweiten von $0,85-1,6\ \mu$ waren sämtliche Filtrate der 15 Fraktionen zu je 10 ml steril (Tabelle 3). Die Filtration der 0,85%igen NaCl-Lösungen mit 100, 200 und 300 Mill./Keime/ml führte beim Filter Nr. 26077 mit einer maximalen Porenweite von $1,6\ \mu$ zu unsterilen Filtraten.

Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Befunden mit niederen Keimzahlen und entspricht nicht den theoretischen Vorstellungen über den Filtrervorgang. Aufgrund der stärkeren "Filterkuchenbildung" hätte bei höheren Keimzahlen die Filterwirkung besser sein müssen. Als Erklärung läßt sich anführen, daß trotz Verstopfung der Filterporen immer einzelne Keime abgerissen, weiter in das Filterinnere verschleppt werden und so das Filter durchwandern. Begünstigt wird vielleicht dieser Vorgang noch durch eine herabgesetzte Adsorption. Bei einer hohen Keimzahl werden bei ungünstiger Porenstruktur die Porenwände schnell mit Keimen abgesättigt. Die nachfolgenden Keime können dann, sofern sie nicht durch Siebwirkung zurückgehalten werden, mehr oder minder ungehindert in das Filtrat gelangen. Möglicherweise ist noch eine weitere Ursache für den Keimdurchtritt verantwortlich. Sie soll in den folgenden Versuchen untersucht werden.

e) VERSUCHE MIT 11 G 5 - GLASFILTERN BEI KONTINUIERLICHER FILTRATION

Aufgrund der Feststellung, daß fraktionierte Filtrationen dichter Keimaufschwemmungen mit 11 G 5 - Glasfiltern bei einem maximalen Porendurchmesser von $1,6\ \mu$ unsterile Filtrate lieferten, wurde in den weiteren Versuchen mit 11 G 5 - Glasfiltern kontinuierliche Filtration durchgeführt. Diese Untersuchungen sollen empirisch klären, ob die bei der fraktionierten Filtration auftretenden Druckstöße beim Ausgleich des Vakuums in der Filtrationsglocke zum Auswechseln des Auffanggefäßes den Keimdurchtritt

durch das Filter begünstigen.

Die Filtrationsmenge betrug 50 ml und die *S. marcescens*-Keimzahlen waren auf 80 Mill. (Tabelle 7), 100 Mill.

(Tabelle 8, 200 Mill. (Tabelle 9), 500 Mill. (Tabelle 10) und 1 Milliarde (Tabelle 11) pro ml eingestellt.

Tabelle 7

Untersuchungen über die Sterilfiltration von 50 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung in 0,85%iger NaCl-Lösung mit einer Keimzahl von 8×10^7 /ml durch Glasfilter 11 G 5 von 40 mm Durchmesser

Versuchs-Nr.	Filter Nr.	Max. Porendurchmesser in μ	Filtrationsmenge in ml	Filtrationszeit		Sterilitätskontrolle nach 12Tg
				min	sec	
54	26082	0,85	50	68	45	-
55	26081	1,15	50	13	40	-
56	26080	1,25	50	13	12	-
57	26079	1,3	50	15	23	-
58	26078	1,35	50	18	44	-
59	26077	1,6	50	4	26	+

Tabelle 8

Untersuchungen über die Sterilfiltration von 50 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung in 0,85%iger NaCl - Lösung mit einer Keimzahl von 1×10^8 /ml durch Glasfilter 11 G 5 von 40 mm Durchmesser

Versuchs-Nr.	Filter Nr.	Max. Porendurchmesser in μ	Filtrationsmenge in ml	Filtrationszeit		Sterilitätskontrolle nach 12 Tg.
				min	sec	
60	26082	0,85	50	91	0	-
61	26081	1,15	50	8	9	-
62	26080	1,25	50	7	15	-
63	26079	1,3	50	15	47	-
64	26078	1,35	50	5	43	-
65	26077	1,6	50	3	22	+

Tabelle 9

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
50 ml einer *S. marcescens* - Aufschwemmung in
0,85%iger Na Cl - Lösung mit einer Keimzahl
von 2×10^8 /ml durch Glasfilter 11 G 5 von
40 mm Durchmesser

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg.
				min	sec	
66	26082	0,85	50	115	15	-
67	26081	1,15	50	19	19	-
68	26080	1,25	50	21	19	-
69	26079	1,3	50	16	55	-
70	26078	1,35	50	28	57	-
71	26077	1,6	50	4	41	+

Tabelle 10

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
50 ml einer *S. marcescens* - Aufschwemmung in
0,85%iger Na Cl - Lösung mit einer Keimzahl
von 5×10^8 /ml durch Glasfilter 11 G 5 von
40 mm Durchmesser

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg.
				min	sec	
72	26082	0,85	50	143	30	-
73	26081	1,15	50	45	21	-
74	26080	1,25	50	49	50	-
75	26079	1,3	50	41	25	-
76	26078	1,35	50	49	50	-
77	26077	1,6	50	11	25	+

Tabelle 11

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
50 ml einer *S. marcescens* - Aufschwemmung in
0,85%iger Na Cl - Lösung mit einer Keimzahl von
 1×10^9 /ml durch Glasfilter 11 G 5 von 40 mm
Durchmesser

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterilitäts- kontrolle nach 12 Tg.
				min	sec	
78	26082	0,85	50	270	0	-
79	26081	1,15	50	150	40	-
80	26080	1,25	50	110	40	-
81	26079	1,3	50	122	45	-
82	26078	1,35	50	132	3	-
83	26077	1,6	50	14	58	+

ERGEBNISSE

Die kontinuierliche Filtration von 50 ml *S. marcescens*-Aufschwemmungen mit verschiedenen Keimkonzentrationen durch 11 G 5 - Glasfilter lieferte bei maximalen Porendurchmessern von $1,6\ \mu$ ebenfalls unsterile Filtrate.

f) VERSUCHE MIT 25 G 5 - GLASFILTERN BEI FRAKTIONIERTER FILTRATION

Die weiteren Filtrationsversuche (Tabelle 12) wurden mit 25 G 5 - Glasfiltern durchgeführt, die maximale Porendurchmesser von 1,5, 1,6 und $1,7\ \mu$ aufwiesen. Die Keimzahlen betrugen in den einzelnen Versuchen 100, 200 und 300 Mill/ml.

Tabelle 12

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
3 x 50 bzw. 2 x 150 ml einer *S. marcescens*-
Aufschwemmung in 0,85%iger NaCl.-Lösung
durch Glasfilter 25 G 5 von 95 mm Durchmesser

Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ
26084	1,5
26083	1,6
29830	1,7

Versuchs- Nr.	Keim- zahl ml/	Filtrations- menge in ml	Filter Nr. 26084			Filter Nr. 26083			Filter Nr. 29830		
			Filtrations- zeit min sec	Steri- litäts- kontrolle nach 12 Tg.		Filtrations- zeit min sec	Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg.		Filtrations- zeit min sec	Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg.	
84-86	1 x 10 ⁸	3 x 50	3 45	-		1 35	-				
			7 40	-		3 25	-				
			9 10	-		3 55	-				
87-89	1,5x10 ⁸	3 x 50	1 15	-		0 59	-				
			2 10	-		1 20	-				
			4 15	-		1 45	-				
90-92	2 x 10 ⁸	3 x 50	9 50	-		1 55	-		4 14	-	
			39 20	-		7 40	-		16 42	-	
			53 5	-		21 35	-		33 10	-	
93-95	2 x 10 ⁸	3 x 50	1 20	-		1 2	-				
			3 35	-		1 45	-				
			11 5	-		2 25	-				
96-98	2 x 10 ⁸	3 x 50	2 25	-		1 35	-				
			6 45	-		2 40	-				
			18 15	-		2 55	-				
99-101	3 x 10 ⁸	3 x 50	12 40	-		1 55	-				
			37 30	-		5 30	-				
			19 35	-		67 15	-				
102-104	2 x 10 ⁸	2 x 150	12 5	-		5 25	-				
			25 45	-		8 10	-				

ERGEBNISSE

Die Filtrate fraktionierter Filtrationen von *S. marcescens*-Aufschwemmungen durch 25 G 5 - Glasfilter waren steril (Tabelle 12), obwohl die maximalen Porendurchmesser dieser Filter 1,5 bis 1,7 μ betrugen. Man kann diese Ergebnisse nicht mit denen der 11 G 5 - Filter vergleichen, die bei 1,6 μ unsterile Filtrate lieferten, weil die Filterschicht der 25 G 5 - Filter dicker ist und damit eine größere Adsorptionsfläche besitzt. Da die Filterfraktionen von 3 x 50 ml bzw. 2 x 150 ml steril blieben, kann erwartet werden, daß eine kontinuierliche Filtration größerer Flüssigkeitsmengen ebenfalls gute Resultate liefern wird.

g) VERSUCHE MIT CORNING-GLASFILTERN BEI FRAKTIONIRTER FILTRATION

Die Versuche mit CORNING-Glasfiltern wurden analog den Versuchen mit Jenaer Glasfiltern durchgeführt. Ihre maximalen Porendurchmesser bewegten sich zwischen 0,8 bis 1,6 μ . Als Filtrationsflüssigkeit dienten *S. marcescens*-Aufschwemmungen mit einem Keimgehalt von 25.000 (Tabelle 13), 100 Mill. (Tabelle 14) und 200 Mill. (Tabelle 15) pro ml. Die Zahl der Filtratfraktionen differierte innerhalb der Versuchsserien zwischen 2- bis 8-mal 10 ml. Durch das Filter Nr. 5 wurden im Versuch 118 (Tabelle 14) kontinuierlich 50 ml der Keimsuspension gesaugt.

Tabelle 13

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
5 bis 8 x 10 ml einer *S. marcescens*-Aufschwem-
mung in 0,85%iger Na Cl - Lösung mit einer
Keimzahl von $2,5 \times 10^4$ /ml durch Corning-Glas-
filter (30 mm Durchmesser)

Versuch- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätskon- trolle nach 12 Tg.
				min	sec	
105	15	0,8	10	7	29	-
			10	7	35	-
			10	7	52	-
			10	7	28	-
			10	7	19	-
			10	7	10	-
106	14	0,85	10	4	23	-
			10	4	45	-
			10	4	27	-
			10	-	-	-
			10	4	47	-
			10	5	41	-
107	13	0,9	10	8	22	-
			10	6	30	-
			10	7	25	-
			10	7	36	-
			10	7	38	-
			10	8	59	-
108	4	0,9	10	2	4	-
			10	1	45	-
			10	1	47	-
			10	1	48	-
			10	1	44	-
			10	1	47	-
			10	1	48	-
			10	1	43	-
109	12	1,0	10	2	5	-
			10	1	47	-
			10	1	40	-
			10	1	39	-
			10	1	40	-
			10	1	51	-
			10	1	52	-
			10	1	48	-
110	3	1,05	10	1	32	-
			10	1	34	-
			10	1	47	-
			10	1	45	-
			10	1	47	-
			10	1	45	-
			10	1	46	-
			10	1	50	-
111	5	1,6	10	0	49	-
			10	0	44	-
			10	0	45	-
			10	0	43	-
			10	0	44	-
			10	0	42	-
			10	0	44	-
			10	0	46	-

Tabelle 14

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
2 bzw. 3 x 10, bzw. 1 x 50 ml einer S.marcescens-
Aufschwemmung in 0,85%iger Na Cl-Lösung mit einer
Keimzahl von 1×10^8 /ml durch Corning-Glasfilter
(30 mm Durchmesser)

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg.
				min	sec	
112	15	0,8	10	36	20	-
			10	71	8	-
113	14	0,85	10	18	5	-
			10	55	21	-
114	13	0,9	10	42	20	-
			10	102	33	-
115	4	0,9	10	5	50	-
			10	24	46	-
			10	40	21	-
116	12	1,0	10	4	2	-
			10	21	52	-
			10	40	15	-
117	3	1,05	10	12	48	-
			10	32	42	-
			10	52	17	-
118	5	1,6	50	9	35	-

Tabelle 15

Untersuchungen über die Sterilfiltration 1, 2 bzw.
6 x 10 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung in
0,85%iger Na Cl - Lösung mit einer Keimzahl von
2 x 10⁸/ml durch Corning-Glasfilter (30 mm Durchmesser)

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätskont- rolle nach 12 Tg.
				min	sec	
119	15	0,8	10	32	37	-
			10	69	34	-
120	14	0,85	10	33	25	-
			10	77	28	-
121	13	0,9	10	65	7	-
122	4	0,9	10	24	7	-
			10	57	9	-
123	12	1,0	10	29	40	-
			10	77	39	-
124	3	1,05	10	22	50	-
			10	64	30	-
125	5	1,6	10	1	10	-
			10	1	28	+
			10	2	8	+
			10	-	-	+
			10	2	23	+
			10	3	30	+

ERGEBNISSE

Die Filtratfraktionen der *S. marcescens*-Aufschwemmung mit 25.000 Keimen/ml waren bei allen Corning-Filterversuchen steril. Ebenfalls blieb das Filtrat der kontinuierlichen Filtration durch das Filter Nr. 5 mit einem maximalen Porendurchmesser von $1,6 \mu$ steril. Die fraktionierte Filtration mit demselben Filter ergab jedoch ab der 2. Filtration unsterile Filtrate. Sie bestätigen, daß die fraktionierte Filtration eine größere Filterbelastung darstellt und ein maximaler Porendurchmesser von $1,6 \mu$ keine Filtratsterilität gewährleistet.

h) FILTRATION 48 Std. - *S. marcescens*-Bouillonkulturen mit G 5 SOWIE CORNING - GLASFILTERN

In den weiteren Versuchen wurden durch 3 G 5-, 11 G 5-, 17 G 5-, 25 G 5 und Corning Glasfilter 48 Stunden alte *S. marcescens*-Bouillonkulturen filtriert. Die Filtrationsmenge betrug für 3 G 5- und 11 G 5-Glasfilter 5 bzw. 10 ml (Tabelle 16). Bei den Corning-Filtern erfolgte die Filtration in 3 bzw. 5 Fraktionen zu je 10 ml (Tabelle 17), in den Versuchen Tabelle 18 sind mit beiden Filterarten je 50 ml der Bouillonkulturen kontinuierlich abfiltriert worden. Lediglich beim Filter 5 mit einem maximalen Porendurchmesser von $1,6 \mu$ handelt es sich um 3×50 ml. Es sollte in diesen Untersuchungen festgestellt werden, ob Nährbouillon, die eine andere Grenzflächenspannung als die bisher verwendete 0,85%ige NaCl.-Lösung hat, die Filtrationsergebnisse ungünstig beeinflusst. Bekanntlich nimmt eine Bouillon beim Autoklavieren durch Verseifung ihrer Fettsuren gewisse Netzmitteleigenschaften an.

Tabelle 16

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
5 bzw. 10 ml einer 48 std. S.marcescens-Bouillon-
Kultur durch Glasfilter 3 G 5 und 11 G 5

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit min	sec	Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg.
126	22560/3G5	1,1	5	165	0	-
127	22561/3G5	1,15	10	19	55	-
128	22557/3G5	1,15	10	17	5	-
129	22556/3G5	1,15	10	208	0	-
130	22564/3G5	1,3	10	180	0	-
131	22565/3G5	1,3	10	128	30	-
132	22555/3G5	1,3	10	42	15	-
133	22563/3G5	1,35	10	105	55	-
134	29828/11G5	1,35	10	1	45	-
135	29829/11G5	1,35	10	2	31	-
136	29826/11G5	1,5	10	2	18	-
137	26077/11G5	1,6	10	165	55	-

Tabelle 17

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
3 x 10 bzw. 5 x 10 ml einer 48std. S. marcescens-
Bouillon-Kultur durch Corning-Filter (30 mm Durch-
messer)

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätskon- trolle nach 12 Tg
				min	sec	
138	15	0,8	10	15	32	-
			10	39	0	-
			10	58	9	-
139	13	0,9	10	13	36	-
			10	27	21	-
			10	47	17	-
140	11	1,3	10	2	7	-
			10	2	16	-
			10	2	35	-
			10	2	29	-
			10	2	24	-
141	10	1,35	10	1	41	-
			10	2	14	-
			10	2	36	-
			10	2	28	-
			10	2	23	-
142	6	1,5	10	1	38	-
			10	2	5	-
			10	2	36	-
			10	2	40	-
			10	7	33	-

ERGEBNISSE

Sämtliche *S. marcescens*-Bouillonkulturfiltrate der Versuche 126 - 153 c waren steril.

Die Ergebnisse sind damit günstiger als mit 0,85%igen NaCl-Keimsuspensionen.

i) FILTRATIONS - VERSUCHE MIT ERDBAZILLEN - KULTUREN

Aufgrund der Feststellung, daß *S. marcescens* in Bouillonkulturen Glasfilter mit einer maximalen Porenweite von $1,6 \mu$ nicht passieren, wurde in den Versuchen 154 162 (Tabelle 19) geprüft, ob Erdbazillen-Sporen von Glasfiltern 3 G 5 und 11 G 5 abgefangen werden. Die Größe von *S. marcescens* beträgt 0,5 zu 0,5 bis $1,0 \mu$ und die der Sporen 0,3 bis $0,4 \mu$. Dieser Wert kann jedoch von reifen Sporen erheblich übertroffen werden. Exakte Zahlenangaben sind deshalb sehr selten zu finden. Um eine gute Sporenbildung zu erhalten, wurden Erdbazillen 10 Tage in Thioglykolat - Bouillon bei 37°C bebrütet. Von diesen Kulturen wurden jeweils 10 ml filtriert und die Filtrate mit Zusatz frischer steriler Thioglykolatbouillon 50 Tage bebrütet.

ERGEBNISSE

Die Filtrate 10-tägiger Erdbazillenkulturen in Thioglykolat blieben über eine Beobachtungszeit von 50 Tagen steril. Dies läßt darauf schließen, daß Erdbazillensporen, die vereinzelt kleiner sind als Bakterienformen, Glasfilter mit einer maximalen Porenweite von $1,6 \mu$ nicht passieren.

k) FILTRATIONSVERSUCHE MIT TENSID-HALTIGEN BAKTERIENSUSPENSIONEN

Die Fähigkeit von Glasfiltern steril zu filtrieren beruht neben der Siebwirkung auf ihrer Adsorptionsfähigkeit. Untersuchungen haben ergeben, daß ihre elektrische Ladung negativ ist. Sie adsorbieren also besonders stark positiv geladene Teilchen. Dies ließ sich in Versuchen mit Farbstoffen verschiedener elektrischer Ladung zeigen. Es passieren z.B. die ersten Fraktionen einer Gentianaviolett-Lösung das Glasfilter farblos, während Kongorot als negativ geladener Farbstoff vom Filter nicht adsorbiert wird. Bakterien besitzen ebenfalls eine negative Ladung. Aufgrund des gleichsinnigen elektrischen Verhaltens von Bakterien und Filtermaterial erhebt sich die Frage, ob das Festhaltevermögen eines Filters von Bakterien ein reiner Adsorptionsvorgang ist. Eine eindeutige Klärung ist bis heute nicht erzielt worden.

GUNNISON und MARSHALL kamen in Adsorptionsversuchen von Bakterien an einer Reihe von Adsorbentien zu Ergebnissen, die auch für die Bakterienfiltration von Bedeutung sind. Die verschiedenen Adsorbentien adsorbierten durchaus nicht proportional ihren elektrischen Ladungen. Wenn auch geringe Verschiedenheiten der Ladungsstärke für eine Adsorption genügen, so bleibt es trotzdem fraglich, ob die Bakterienhaftung eine Adsorption im engeren Sinne darstellt, zumal die Bakterienzelle zu groß ist, um als kolloidales Teilchen aufgefasst zu werden.

Solange das Festhaltevermögen des Filtermediums für suspendierte Partikel gleichbleibt, wird man mit gleichen

Filtrationsergebnissen rechnen können. Diese Eigenschaft ändert sich jedoch, wenn man der zu filtrierenden Flüssigkeit Tenside zusetzt. HETTCHE konnte bei der Bestimmung von Luftkeimen mit Glasfiltern zeigen, daß ein Zusatz von Igepon zur Spülflüssigkeit die vom Glasfilter abgespülte Bakterienzahl wesentlich erhöhte. Netzmitteleigenschaften besitzen auch biologische Materialien, Blutserum, Galle, Mucin, Lecithin und autoklavierte Bouillon.

In den folgenden Versuchen wurde geprüft, ob Tensidzusätze zur filtrierenden Flüssigkeit die Filtereigenschaften von 3 G 5 - und 11 G 5 - Glasfiltern verschlechtern.

Als Tensid aus der nicht ionogenen Gruppe diente Tween 80 (Polyoxyäthylensorbitammonoleat) in 0,01 (Tabelle 20) sowie 1%iger Lösung (Tabelle 21) und als anionisches Tensid wurde Na-Tetrapropylenbenzolsulfonat in 0,01 (Tabelle 22), 0,1 (Tabelle 23) und 1,0%iger Konzentration (Tabelle 24) verwendet. Die Keimzahl betrug in sämtlichen Versuchen 100 Mill./ml. Die Filtration erfolgte zu je 10 ml mit Ausnahme der 1%igen Tetrapropylenbenzolsulfonatlösung, von der 30 ml kontinuierlich durch das Filter gesaugt wurden.

Tabelle 18

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
1, 2 bzw. 3 x 50 ml einer 48 std. *Serratia-*
marcescens-Bouillon-Kultur durch Jenaer Glasfilter
3 G 5, 11 G 5, 17 G 5, 25 G 5 und Corning-Glasfilter

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit min	Filtrations- zeit sec	Sterilität- kontrolle nach 12 Tg.
143	29824/3G5	1,8	50	25	17	-
144	29827/11G5	1,35	50	6	36	-
145	29825/11G5	1,5	50	15	58	-
146	29823/17G5	1,6	50	2	56	-
147	29830/25G5	1,7	50	1	32	-
148	14	0,85	50	23	53	-
149	4	0,9	50	13 31	47 3	- -
150	12	1,0	50	15 15	18 18	- -
151	3	1,05	50	14 11	11 57	- -
152	8	1,4	50	5	55	-
153 a	5	1,6	50	3	8	-
b	"	"	"	9	59	-
c	"	"	"	26	20	-

Bei den Versuchen 143 - 147 handelt es sich um Jenaer- und
bei den Versuchen 148 - 153 c um Corning - Glasfilter.

Tabelle 19

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
10 ml einer 10 Tage alten Erd-Bazillen-Kultur
in Thioglykolat-Bouillon durch Glasfilter
3 G 5 und 11 G 5

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit min	sec	Sterili- tätsskon- trolle nach 50 Tg.
154	22560/3G5	1,1	10	57	30	-
155	22561/3G5	1,15	10	35	55	-
156	22557/3G5	1,15	10	37	35	-
157	22556/3G5	1,15	10	35	15	-
158	22564/3G5	1,3	10	52	15	-
159	22565/3G5	1,3	10	34	40	-
160	22555/3G5	1,3	10	48	55	-
161	22563/3G5	1,35	10	4	10	-
162	26077/11G5	1,6	10	35	20	-

Tabelle 20

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
3 x 10 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung
in 0,01%iger Twgen 80 - Lösung mit einer Keim-
zahl von 1×10^6 /ml durch Glasfilter 3 G 5 und
11 G 5

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg.
				min	sec	
163	22560/3G5	1,1	10	7	55	-
			10	13	45	-
			10	15	50	-
164	22561/3G5	1,15	10	6	1	-
			10	8	20	-
			10	10	55	-
165	22557/3G5	1,15	10	2	50	-
			10	3	35	-
			10	4	25	-
166	22556/3G5	1,15	10	4	50	-
			10	6	55	-
			10	9	35	-
167	22564/3G5	1,3	10	4	10	-
			10	8	10	-
			10	9	55	-
168	22565/3G5	1,3	10	5	35	-
			10	9	15	-
			10	12	30	-
169	22555/3G5	1,3	10	4	25	-
			10	7	40	-
			10	12	55	-
170	22563/3G5	1,35	10	5	18	-
			10	12	10	-
			10	14	40	-
171	26077/11G5	1,6	10	12	30	-
			10	25	20	-
			10	29	55	-

Tabelle 21

Untersuchungen über die Sterilfiltration von 3 x 10 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung in 1%iger Tween 80-Lösung mit einer Keimzahl von 1×10^8 Keim/ml durch Glasfilter 3 G 5 und 11 G 5

Versuchs-Nr.	Filter Nr.	Max. Poren-durchmesser in μ	Filtrations-menge in ml	Filtrations-zeit		Sterilitäts-kontrolle nach 12. Tg.
				min	sec	
172	22560/3G5	1,1	10	10	10	-
			10	15	15	-
			10	18	22	-
173	22561/3G5	1,15	10	4	2	-
			10	9	12	-
			10	11	40	-
174	22557/3G5	1,15	10	3	58	-
			10	9	30	-
			10	11	20	-
175	22556/3G5	1,15	10	6	15	-
			10	14	4	-
			10	17	15	-
176	22564/3G5	1,3	10	7	55	-
			10	13	30	-
			10	17	15	-
177	22565/3G5	1,3	10	9	30	-
			10	14	15	-
			10	17	35	-
178	22555/3G5	1,3	10	5	1	-
			10	10	15	-
			10	15	10	-
179	22563/3G5	1,35	10	4	55	-
			10	7	44	-
			10	9	20	-
180	26077/11G5	1,6	10	6	10	-
			10	12	25	-
			10	15	45	-

Tabelle 22

Untersuchungen über die Sterilfiltration von 3×10 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung in 0,01%iger Na-Tetrapropylbenzolsulfonat-Lösung mit einer Keimzahl von 1×10^8 Mill/ml durch Glasfilter 3 G 5 und 11 G 5

Versuch Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätsskon- trolle nach 12 Tg.
				min	sec	
181	22560/3G5	1,1	10	8	55	-
			10	21	15	-
			10	23	35	-
182	22561/3G5	1,15	10	3	7	-
			10	6	33	-
			10	16	20	-
183	22557/3G5	1,15	10	2	25	-
			10	7	5	-
			10	12	15	-
184	22556/3G5	1,15	10	5	7	-
			10	10	6	-
			10	11	55	-
185	22564/3G5	1,3	10	3	35	-
			10	9	10	-
			10	11	55	-
186	22565/3G5	1,3	10	2	15	-
			10	8	35	-
			10	11	55	-
187	22565/3G5	1,3	10	5	1	-
			10	6	55	-
			10	6	45	-
188	22563/3G5	1,35	10	2	55	-
			10	6	35	-
			10	13	15	-
189	26077/11G5	1,6	10	4	35	-
			10	10	55	-
			10	13	25	-

Tabelle 23

Untersuchungen über die Sterilfiltration von 3 x 10 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung in 0,1%iger Na-Tetra-propylenbenzolsulfonat-Lösung mit einer Keimzahl von 1×10^8 /ml durch Glasfilter 3 G 5 und 11 G 5

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterili- tätskon- trolle nach 12 Tg.
				min	sec	
190	22560/3G5	1,1	10	8	50	-
			10	17	2	-
			10	21	35	-
191	22561/3G5	1,15	10	5	14	-
			10	9	25	-
			10	13	55	-
192	22557/3G5	1,15	10	3	32	-
			10	11	56	-
			10	15	35	-
193	22556/3G5	1,15	10	4	5	-
			10	12	35	-
			10	18	15	-
194	22564/3G5	1,3	10	6	20	-
			10	15	10	-
			10	24	15	-
195	22565/3G5	1,3	10	12	31	-
			10	20	10	-
			10	28	25	-
196	22555/3G5	1,3	10	3	1	-
			10	13	27	-
			10	19	22	-
197	22563/3G5	1,35	10	5	1	-
			10	12	25	-
			10	16	12	-
198	26077/11G5	1,6	10	17	20	-
			10	34	25	-
			10	42	35	-

Tabelle 24

Untersuchungen über die Sterilfiltration von
1 x 30 ml einer *S. marcescens*-Aufschwemmung in
1%iger Na-Tetrapropylenbenzolsulfonat-Lösung mit
einer Keimzahl von 1×10^8 /ml durch Glasfilter
3 G 5 und 11 G 5

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser in μ	Filtrations- menge in ml	Filtrations- zeit		Sterilitäts- kontrolle nach 12 Tg.
				min	sec	
199	22560/3G5	1,1	30	39	55	-
200	22561/3G5	1,15	30	24	3	-
201	22557/3G5	1,15	30	17	11	-
202	22556/3G5	1,15	30	28	15	-
203	22564/3G5	1,3	30	21	35	-
204	22565/3G5	1,3	30	47	5	-
205	22555/3G5	1,3	30	27	20	-
206	22563/3G5	1,35	30	24	5	-
207	26077/11G5	1,6	30	85	45	-

ERGEBNISSE

Die fraktionierten Filtrationen von *S. marcescens*-Suspensionen mit Tween 80-Zusätzen in Konzentration von 0,01 % (Tabelle 20) und 1% (Tabelle 21) durch 3 G 5 und 11 G 5 - Filter ergaben selbst bei einer maximalen Filterporenweite von $1,6 \mu$ sterile Filtrate. Die Filtrate der Parallelversuche mit dem anionischen Tensid Na-Tetrapropylenbenzolsulfonat in 0,01, 0,1 und 1,0%iger Lösung (Tabellen 22, 23 und 24) blieben ebenfalls steril.

Die Anlagerung der Tenside sowohl an der Bakterienoberfläche als auch an den Filterwänden hat in den vorliegenden Versuchen die Sterilfiltration bis zu einer maximalen Filterporenweite von $1,6 \mu$ trotz Herabsetzung der Adsorptionskraft nicht verschlechtert. Diese Ergebnisse weisen daraufhin, daß das Festhaltevermögen von Bakterien in Glasfiltern nicht nur ein Adsorptions-, sondern auch ein mechanischer Effekt sein muß. Bei sehr großen Porenweiten der Glasfilter werden sich jedoch Tensidezusätze, wie es von Berkefeld-Filtern bekannt ist, ungünstig erweisen.

1) DURCHWACHSUNGSVERSUCHE VON G 5 - SOWIE CORNING-GLAS-FILTERN

Von weiterem Interesse war, in welcher Zeitspanne Glasfilter infolge Vermehrung der Keime im Inneren der Filter durchwachsen werden. Wie KNÖLL bereits früher in seinen Versuchen hingewiesen hat, muß man unterscheiden zwischen Durchwachsen bei fehlendem und vorhandenem hydrostatischem Druck. Letzteres trifft z.B. zu, wenn man mit beimpfter Bouillon gefüllte Filter in Gefäße stellt, die nur eine niedrige oder gar keine Bouillonschicht enthalten. Hierbei treten minimale Flüssigkeitsströme durch das Filtermedium, die eine Anreicherung von Bakterienstoffwechselprodukten verhindern, neue Nährstoffe herantransportieren und somit das Wachstum begünstigen. Von Wichtigkeit ist weiterhin, ob das Filter trocken oder mit Nährmedium getränkt zum Versuch verwendet und ob in bestimmten Zeitabständen

etwas Filtrat abgesaugt wird. Das Ansaugen des Filtrates ist jedoch nicht mehr ein Durchwachungsversuch im eigentlichen Sinne, sondern eine zeitlich fraktionierte Vakuumfiltration. Von Bedeutung sind ferner Nährstoffgehalt der Keimsuspension und Temperatur, Je mehr sich beide einem dem Bakterium entsprechenden Optimum nähern, desto kürzer ist die Durchwachungszeit.

In den vorliegenden Versuchen wurden auf Filtrationsglocken aufgesetzte sterile, trockene 3 G 5-, 11 G 5-, 17 G 5-, 25 G 5- und Corning-Filter randhoch mit einer 48stündigen *S. marcescens*-Bouillon gefüllt und um sekundäre Luftkeimverunreinigungen sowie stärkere Verdunstungsverluste zu vermeiden mit einem sterilen Petrischalendeckel abgedeckt. In die Filtrationsglocke kam ein mit 10 ml steriler Nährbouillon gefülltes Auffanggefäß von 200 ml Fassungsvermögen. Durch den hydrostatischen Druck wurde langsam ein Teil der *S. marcescens*-Bouillon durch das Filter in das Auffanggefäß gepreßt. Diese Bouillonverluste wurden durch neue sterile Bouillon ergänzt. Die Versuche erfolgten bei Raumtemperatur und wurden für jedes Filter solange fortgesetzt, bis im Auffanggefäß ein Wachstum von *S. marcescens* eintrat. Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 wiedergegeben.

Tabelle 25

Durchwachungsversuche der Glasfilter mit *S. marcescens*

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser μ	Durchwachsen nach Tagen
a) <u>Jenaer-Glasfilter 3 G 5</u>			
208	22561	1,15	11
209	22557	1,15	12
210	22556	1,15	9
211	22555	1,3	9
212	22565	1,3	10
213	22563	1,35	16
214	29824	1,8	6
b) <u>Jenaer-Glasfilter 11 G 5</u>			
215	29827	1,35	10
216	29828	1,35	9
217	29829	1,35	13
218	29826	1,5	4
219	29825	1,5	13
c) <u>Jenaer-Glasfilter 17 G 5</u>			
220	29823	1,6	4

Fortsetzung von Tabelle 25

Versuchs- Nr.	Filter Nr.	Max. Poren- durchmesser μ	Durchwachsen nach Tagen
d) <u>Jenaer-Glasfilter 25 G 5</u>			
221	26083	1,6	8
222	29830	1,7	6
e) <u>Corning-Filter</u>			
223	15	0,8	61
224	4	0,9	90
225	13	0,9	37
226	12	1,0	36
227	3	1,05	22
228	8	1,4	8

ERGEBNISSE

Beim Durchwachsen eines Filters gehen die Keime den Weg des geringsten Widerstandes, während sie bei der Druck- und Vakuumfiltration durch den Flüssigkeitsstrom in eine bestimmte Richtung gelenkt und mit Gewalt gegen die Filterwand in Winkel und Knicke des Porensystems gepreßt werden. Dies kann dazu führen, daß Filter mit einem maximalen Porendurchmesser über $2\text{ }\mu$ schneller durchwachsen werden als sie unsterile Filtrate bei der Filtration liefern.

Ob dieses Phänomen auch für den einen oder anderen Durchwachsungsversuch der geprüften Filter zutrifft, kann nicht beurteilt werden, weil Dauerfiltrationsversuche nicht durchgeführt worden sind. Sie sind auch weniger von Interesse, weil die Filterleistung selbst bei der Filtration keimärmer Lösungen durch zahlreiche kolloidale Begleitstoffe schnell auf ein unrentables Minimum sinkt, sofern keine Vorfiltration erfolgt.

Aus den in Tabelle 25 angegebenen Durchwachsungszeiten ist zu ersehen, daß die kürzeste Durchwachsungszeit innerhalb einer Filtersorte stets das Filter mit der größten Porenweite aufwies. Eine gesetzmäßige Abhängigkeit zwischen Durchwachsungszeit und Filterporenweite ließ sich jedoch nicht feststellen, denn gleiche maximale Porendurchmesser ergaben teilweise sehr unterschiedliche Durchwachsungszeiten und engere Poren wurden z.B. bei einigen 3 G 5 - und 11 G 5 - Filtern schneller durchwachsen als weitere.

Dies bestätigt, daß jedes Filter ein Einzelindividuum darstellt, über dessen Verhalten gegenüber biologischen Material der einzige physikalische Wert - der maximale Porendurchmesser - wenig aussagt. Es sind deshalb auch Vergleiche zwischen den einzelnen Filterarten nicht anständig. Filterporen unter $1,0\text{ }\mu$ wurden im Extrem in 90 Tagen durchwachsen, während hierzu für $1,5$ bzw. $1,6\text{ }\mu$ nur 4 Tage notwendig waren.

F. Besprechung der Ergebnisse

Der Sterilfiltration kommt in der Bakteriologie und Virologie sowie in der Pharmazie, um die Bildung bakterieller Pyrogene insbesondere bei der Injektions- und Infusionsmittelherstellung zu verhindern, eine große Bedeutung zu.

Als brauchbare Sterilfilter haben sich in den letzten 25 Jahren Ganzglasbakterienfilter bewährt, die sich aus zwei Schichten aufbauten. Auf einer als Trägerplatte dienenden Schicht mit einer Porenweite von $15 - 40 \mu$ war eine dünne, poröse Glasschicht aufgesintert. Um eine sichere Sterilfiltration zu gewährleisten, durfte der Porendurchmesser der aufgesinterten Schicht einen empirisch ermittelten oberen Grenzwert von $1,7 \mu$ nicht überschreiten.

Die heute hergestellten Ganzglasbakterienfilter sind nur noch Einschichtfilter ohne Trägerplatte. Derartige fabrikationstechnische Änderungen können zu wesentlichen Abweichungen des physikalisch bestimmten maximalen Porendurchmessers führen. Dies beruht darauf, daß die physikalische Bestimmung des maximalen Porendurchmessers nur für kreisrunde, geradlinig verlaufende Filterporen einen exakten wert liefert. Diese Voraussetzungen sind jedoch bei keinem Filtermaterial gegeben. Angaben über den maximalen Porendurchmesser von Filtern sind infolgedessen nur ein Annäherungswert, der lediglich Vergleiche innerhalb einer nach demselben Verfahren hergestellten Filterart erlaubt. Es war deshalb notwendig, um den Porendurchmesser als Bezugsgröße der Sterilfiltration bei der neuen Filterart verwenden zu können, den maximalen Porendurchmesser, der noch eine sichere Sterilfiltration gewährleistet, erneut empirisch zu bestimmen. Der maximale Porendurchmesser ist deshalb von Interesse, weil in der Praxis überwiegend Filter benötigt werden, deren Porenweiten in der Nähe des Grenzwertes der Sterilfiltration liegen, denn die Filterleistung ist nicht nur von der Summe der Filterporen, sondern auch entscheidend von der Porengröße abhängig.

Als Prüfkeim wurde *S. marcescens* gewählt, weil seine Größe nur $0,5 - 0,7 \mu$ beträgt und seine Kolonien wegen ihrer Farbstoffbildung sich leicht von sekundären Verunreinigungen

abgrenzen lassen. Zurs Suspension der Keime diente mit Ausnahme spezieller Versuche eine 0,85 %ige NaCl-Lösung.

Die Versuche mit 3 G 5 - und 11 G 5- sowie Corning-Glasfiltern ergaben, daß die Keimzahl der zu filtrierenden Flüssigkeit eine entscheidende Bedeutung für die Sterilfiltration besitzt. Bei der Filtration von *S.marcescens*-Suspensionen mit $2,5 \cdot 10^4$ Keimen/ml durch 11 G 5-Glasfilter mit maximalem Porenweiten bis $1,6 \mu$ waren sämtliche Filtrate von 15 Fraktionen zu je 10 ml steril. Filtrationen mit Keimsuspensionen von $1 \cdot 10^6$ bis $1 \cdot 10^9$ Keimen/ml lieferten dagegen bei einer maximalen Porenweite von $1,6 \mu$ unsterile Filtrate. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Befunden mit niederen Keimzahlen und entspricht nicht den Vorstellungen über den Filtervorgang. Bisher wurde stets angenommen, daß höhere Keimzahlen zu besseren Resultaten führen, weil sich auf der Filteroberfläche verhältnismäßig schnell eine Bakterien-schicht ausbildet, die das Lumen der Filterporen verengt und somit indirekt mechanisch den Filtervorgang verbessert. Diese Vorstellung ist nach den vorliegenden Ergebnissen nur teilweise richtig, denn das Prinzip der Bakterienfiltration beruht bei Glasfiltern nicht nur auf einer Siebwirkung, sondern im wesentlichen auf Adsorptionsvorgängen. Durch hohe Keimzahlen werden bei ungünstiger Porenstruktur die Porenwände in kurzer Zeit mit Keimen abgesättigt. Die nachfolgenden Keime können dann, sofern sie nicht durch Siebwirkung zurückgehalten werden, mehr oder weniger ungehindert in das Filtrat gelangen. Ferner muß man berücksichtigen, daß einzelne Keime von ihren Adsorptionsflächen abgerissen werden können, weiter in das Innere der Filterschicht verschleppt werden und auf diese Weise das Filter langsam durchwandern. Der letzte Vorgang wird besonders durch Druckstöße begünstigt, wie sie bei fraktionierter Filtration durch Druckausgleich des Vakuums und erneuter Evakuierung eintreten. Für die Richtigkeit dieser Vorstellung spricht die Beobachtung, daß selbst bei höheren Keimzahlen der zu filtrierenden Flüssigkeit sowohl bei dem 3 G 5-Filter mit einem maximalen Porendurchmesser von $1,8 \mu$ als auch bei den 11 G 5- und Corning-Filtern mit $1,6 \mu$ niemals das

erste Filtrat, sondern erst das Filtrat der 2. oder 3. Fraktion unsteril war. Die Erschöpfung der Adsorptionsflächen und Druckstöße sind also zwei wesentliche Faktoren, die die Sterilfiltration beeinträchtigen. Zur Sterilfiltration muß deshalb aus Sicherheitsgründen bei 3 G 5-, 11 G 5- und Corning-Glasfiltern eine kleinere maximale Porenweite als $1,6 \mu$ verwendet werden.

Von weiterer Bedeutung für die Sterilfiltration ist die Stärke der Glassinterschicht. Sie ist bei den kleineren Filterarten relativ dünn, weil die Gesamtfilterfläche bei den Corningfiltern $8,0 \text{ cm}^2$ und bei den 3 G 5- sowie 11 G 5-Filtern $9,6 \text{ cm}^2$ beträgt. Diese kleinen Filterflächen sind bei der Vakuum- oder Druckfiltration einer wesentlich kleineren Gesamtdruckbelastung als 25 G 5-Filter ausgesetzt, die eine Gesamtfilterfläche von $40,2 \text{ cm}^2$ aufweisen. Die Glassinterschicht muß daher bei den 25 G 5-Filtern wesentlich stärker sein. Aufgrund dieser dickeren Filterschicht und damit größeren Adsorptionsfläche der einzelnen Filterporen ergaben fraktionierte Filtrationen von *S. marcescens*-Suspensionen mit 1×10^8 bis 3×10^8

Keimen/ml bei den 25 G 5-Filtern im Gegensatz zu den Corning- und 11 G 5-Filtern selbst noch bei einer maximalen Porenweite von $1,7 \mu$ sterile Filtrate.

Glasfilter und Bakterien besitzen bekanntlich eine negative Ladung. Das gleichsinnige elektrische Verhalten wirft die Frage auf, ob die Sterilfiltrationen ausschließlich auf Adsorptionsvorgängen beruhen. Eine eindeutige Klärung ist bis heute nicht erzielt worden. GUNNISON und MARSHALL kamen in Adsorptionsversuchen von Bakterien mit verschiedenen Adsorbentien zu Ergebnissen, die auch für die Bakterienfiltration von Bedeutung sind. Nach ihren Angaben ist die Adsorption nicht proportional der elektrischen Ladung. Wenn auch geringe Unterschiede in der Ladungsstärke eine Adsorption auslösen, so bleibt es trotzdem fraglich, ob die Bakterienhaftung in den Filtern eine Adsorption im engeren Sinn darstellt, weil die Bakterienzelle zu groß ist, um als kolloidales Teilchen aufgefaßt zu werden.

Wegen diesen Überlegungen war es von Interesse, zu untersuchen, ob Zusätze von grenzflächenaktiven Substanzen zur filtrierenden Flüssigkeit das Festhaltevermögen der Filterschicht beeinflussen. HETTCHE konnte bei der Bestimmung von Luftkeimen mit Glasfilter nachweisen, daß ein Zusatz von Igepon zur Spülflüssigkeit der Filter bessere Bakterienausbeuten ergab. Netzmittelleigenschaften besitzen bekanntlich zahlreiche biologische Substrate, wie z. B. Blutserum, Galle, Mucin, Lecithin, autoklevierte Bouillon usw. Filtrationsversuche mit 48 stündigen *S.marcescens* Bouillonkulturen sowie 10 Tage alten Erdbazillenkulturen in Thioglykolatbouillon führten nicht zu schlechteren Ergebnissen, als sie mit *S.marcescens*-Suspensionen in 0,85%iger NaCl-Lösung erzielt worden waren. Auch Filtrationen von Keimsuspensionen in 0,01 und 1,0%igen Tween-80-Lösungen sowie in 0,01, 01, und 1%igen Na-Tetrapropylenbazolsulfonat-Lösungen lieferten keine ungünstigeren Resultate. Von Versuchen mit kationischen Tensiden wurde Abstand genommen, weil diese Netzmittel bakterio-statische bzw. bakterizide Eigenschaften besitzen. Diese Befunde weisen daraufhin, daß die Sterilfiltration nicht allein von der Adsorptionskraft abhängt, weil sie zweifellos infolge der micellaren Wirkung der Tenside beeinträchtigt worden ist. Es muß angenommen werden, daß auch mechanische Effekte bei der Sterilfiltration eine Rolle spielen.

Dauerfiltrationsversuche sind mit den Filtern nicht durchgeführt worden, weil sie für die Praxis bedeutungslos sind. Als wesentlicher Grund muß hier für die Verstopfung der Filterporen durch Bakterien und kolloidale Begleitstoffe genannt werden, so daß die Filterleistung, sofern keine Vorfiltration erfolgt, sehr schnell auf ein unrentables Minimum absinkt. Die vorliegenden Versuche wurden daher stets beendet, wenn die Filtration nur noch geringere Filtratmengen lieferte.

Von größerem Interesse als Dauerfiltrationsversuche waren Untersuchungen über die Durchwachungszeit der Filter, weil hierbei die Keime den Weg des geringsten Widerstandes

gehen, während sie bei der Druck- oder Vakuumfiltration durch den Flüssigkeitsstrom in bestimmte Richtungen gelenkt und gegen die Filterwand in Winkel und Knicke des Porensystems gepreßt werden. Dies kann theoretisch zur Folge haben, daß Filter mit einem verhältnismäßig großen Porendurchmesser eventuell schneller durchwachsen werden, als sie unsterile Filtrate bei der Filtration liefern. Die Versuche ergaben, daß die kürzesten Durchwachungszeiten innerhalb einer Filterart stets das Filter mit der größten Porenweite aufwies. Filter mit einer maximalen Porenweite unter $1\text{ }\mu$ wurden im Extrem in 90 Tagen und Filter mit Porenweiten um $1,5 - 1,6\text{ }\mu$ im ungünstigsten Fall in 4 Tagen durchwachsen. Eine gesetzmäßige Abhängigkeit zwischen Durchwachungszeit und Filterporenweite ließ sich nicht ableiten. Identische maximale Porenweiten zeigten teilweise sehr unterschiedliche Durchwachungszeiten, und engere Poren wurden z.B. bei einigen 3 G 5- und 11 G 5-Filtern schneller durchwachsen als weitere. Dies bestätigt, daß jedes Filter ein Einzelgebilde darstellt, über dessen Verhalten der einzig zur Verfügung stehende Wert - "der maximale Porendurchmesser" - wenig aussagt. Um eine sichere Sterilfiltration zu gewährleisten, darf daher nach den vorliegenden Ergebnissen der maximale Porendurchmesser nicht größer als $1,5\text{ }\mu$ sein.

F. Zusammenfassung

Die Sterilfiltration besitzt für die Bakteriologie und Virologie sowie für die Arzneimittelherstellung eine grosse Bedeutung. Besonders bewährt haben sich Ganzglasbakterienfilter. Ihre Filterschicht bestand bisher aus einer Trägerplatte und einer dünnen Glassinterschicht. Die heutigen Ganzglasbakterienfilter sind nur noch Einschichtfilter ohne Trägerplatte. Um den maximalen Porendurchmesser als Bezugswert für die Sterilfiltration verwenden zu können, wurde der geeignete Porendurchmesser empirisch ermittelt. Als Prüfkeim wurde *S. marcescens* gewählt. Filtrationen von Keimsuspensionen mit $2,5 \times 10^4$ Keimen/ml durch 11 G 5 - Glasfilter mit maximalen Porenweiten bis zu $1,6 \mu$ lieferten sterile Filtrate, während solche von Keimsuspensionen von 1×10^6 bis 1×10^9 bei einer maximalen Porenweite von $1,6 \mu$ unsterile Filtrate ergaben. Dickere Filterschichten, wie sie die 25 G 5 - Filter aufweisen, verbessern den Filterwirkungseffekt. Ob die Sterilfiltration überwiegend auf Adsorptionsvorgängen beruht, ist bis heute nicht eindeutig geklärt worden. Zusätze von Tensiden in verschiedenen Konzentrationen beeinträchtigten die Filterwirkung nicht.

Während bei der Druck- oder Vakuumfiltration die Keime durch den Flüssigkeitsstrom in Winkel und Knicke des Porensystems gepresst werden, folgen die Keime in Durchwachsungsversuchen den Weg des geringsten Widerstandes. Ist das Porensystem sehr stark labyrinthartig verzweigt, wird die Durchwachsungszeit länger dauern als bei gleichgroßen mehr oder weniger geradlinig verlaufenden Poren. Filter mit kleineren maximalen Porenweiten werden zum Teil schneller durchwachsen als Filter mit größeren Porenweiten. Jedes Filter stellt ein "Einzelgebilde" dar, über dessen Verhalten der einzig zur Verfügung stehende Wert "der maximale Porendurchmesser" wenig aussagt. Aus Sicherheitsgründen müssen daher bei der Sterilfiltration Filter mit kleineren maximalen Porendurchmessern als der empirisch ermittelte Grenzwert verwendet werden. Filter, deren maximaler Porendurchmesser größer als $1,5 \mu$ ist, sind für Sterilfiltrationen ungeeignet.

G) LITERATUR

- BACH, D. : Sur L'emploi des creusets Plaque de verre fritte. Pour la détermination pondérale des bactéries. Etude de développement du staphylococcus dore, Bull.Sci.Pharm. 44, 479 (1937).
- BARUS, C. : Remarks on Colloidal Silver Amer.J.med.Sci. 48, 451 (1894).
- BÜCHHOLD, H. : Durchlässigkeit von Ultrafiltern. Z.Physiol. Chemie. 64, 328 (1938). - u.K. Silbereisen: Herstellung weitporiger Ultrafilter. Biochem. Z. 199, 1 (1928).
- BERKEFELD : zit. Knöll (siehe Knöll 1 und 2).
- BERRY, H. : Sterilisation Technique. Pharmaceut. J. 82, 61 (1936). - Bakterial filtration. Pharm. J., July - Dec. 1937, 267 u. 294.
- BIGELOW, S. L. and F. E. BARTEL: The sie of the Pores in Porcelain and osmotic effects. J.amer.chem. Soc. 31, 1174 (1909).
- CHAMBERLAND : Sur un filtre donnant de l'eau physiologiquement Pure. C.R.Acad.Sci.Paris 99, 247 (1884).
- CHRISTIANSEN, W. : Sterilisieren von Arzneilösungen durch Filtration. Pharm.Z. 78, 593 (1937).
- CORTI, P., O.A. Rossi et H.B.Dastugue: La Esterilisation de las Soluciones de Glucosa Por filtration. Rev.Asoc.biocuin.argent. 4, 11 (1939)
- ELFORD, W.J. and J.D. Ferry: The sizes of viruses and bacteriophages, and methods for their determination. Handb-uch der Virusforschung. Bd. 1, S. 126, Wien 1938.- The calibration of graded collodion membranes. Brit.J.exp. Path. 16, 1 (1935).
- GRABER, P. and J.D.Ferry: Graded collodion membranes for bacteriological studies. Brit.J.exp. Path. 16, 583 (1935).
- ENGELHARDT, C. : Bakterienfilter für biologische Arbeiten Z. ges. Brauwesen 60, 45 (1937).
- ERBE, C. : Blockierungsphänomene bei Ultrafiltern. Kolloid-Z. 59,32,195 (1932).-
- " : Die Bestimmung der Porenverteilung nach ihrer Größe in Filtern und Ultrafiltern. Kolloid-Z. 62, 277 (1933).

- FROLA, G. : Sulle migrazione dei germi attraverso
gli ultrafiltri.
Boll.Ist.sieroter.miln. 12, 685 (1933).
- HEIM : zit. Knöll (siehe Knöll 1 und 2).
- HEPP, W. und W.SCHMIDT-LANGE: Über Filtrierbarkeit und
Formveränderung bei Bakterien der Typhus-
gruppe.
Arch. Hyg. 121, 209 (1939).
- HERMANN, A. : Beiträge zur Frage der Oligodynamie
(Katedyn und elektrokatedyn). Inaug.-Diss.
Eidgen.Techn. Hochschule, Zürich 1934.
- HESSE : zit. Knöll (siehe Knöll 1 und 2)
- HÖFMANN, P. : Über die Brauchbarkeit der Jenser Glas-
filter zur keimfreien Filtration.
Zbl.Bakt. I Orig. 140, 1 (1937).
- KNÖLL, H. : (1) Kapillarsystem an der Grenzfläche
Gas-Flüssigkeit.
Kolloid-Z. 86, 1 (1939).
- KNÖLL, H. : (2) Filtrationsversuche mit einem neuen
Gerät zur Bakterienfiltration.
Zbl. Bakt. I Orig. 146, 273 (1940).
- KNORR, M.: : Ein Weichfilter aus Kieselgur.
Mitt. Zentralverb. Desinfekt. u. Hyg. 6
(1921).
- MANEGOLD, E., S. Komagata u. Albrecht, E.: Die Kanalzähl-
Verteilungskurve für Polykapillare Kanal-
systeme.
(Theoret. Teil).
Kolloid-Z. 92, 166 (1940).
- MANEGOLD, E. u. Solf: Über Kapillarsysteme XIX/3. Das effekt-
tive Hohlraumvolumen in verzweigten
Kanalsystemen.
Kolloid-Z. 81, 36 (1937).
- MILLEN, G.R. : The Filtration of micro-organisms through
paper and through sinter Glass.
J.roy. techn. coll. (Glasgow) 4, 417
(1938).
- MORGAN, H.R. : zit. H. Thoma.
- MOTON, H.E. and E.J. Czernetzky: The applikation of sin-
tered (fritted) glassfilters to bacterio-
logical work.
J.Bact. 34, 461 (1937)
- MÜLLER, P.Th.: Münch.med.Wsch. . 2739 (1911).

- NORDMEYER, H.: Über Wasserfiltration durch Filter aus gebrannter Infusorienerde.
Z.Hyg. 10, 145 (1891).
- PASTEUR et Joubert:
(1) Etude sur la maladie charbonneuse.
C.r.Acad.Sci.Paris 84, 900 (1877).
(2) Charbon et septicemie.
C.r.Acad.Sci. Paris 85, 101 (1877).
- PRAUSNITZ, P.H.: Kolloidtechn. Sammelreferat XVII. Filtration im Laboratorium.
Kolloid-Z. 50, 77 u. 167 (1930).
- ROOYEN: zit. Knöll (siehe Knöll 1 und 2).
- ROY, A.C. und R.N. Chopra: The effect of Seitzfiltration on haemolysins and the components of a hemolytic system.
Indian J.med.Res. 26, 303 (1938).
- SANDERS, M.: Studies on the cultivation of the virus of lymphogranuloma venereum.
J. exp. Med. 71, 113 (1940).
- SEIBERT, F.B.: zit. K. Thoma.
- SCHMIDT-KEHL, L.: (1) Der Formwechsel der Serzinen.
Arch. Hyg. 103, 235 (1930).
" " (2) Über Filtrierbarkeit und Größe des Bact.coli.Arch. Hyg. 111, 307 (1934).
- SCHMITTHENNER, F.: Weinentkeimung auf kaltem Wege durch Filtration. Ein neues Verfahren zur Behandlung krankheitsgefährdeter Weine. Festschrift zum 50-jährigen Jubiläum der höheren Staatl. Lehranstalt zu Geisenheim s.Rh.
- SCHRÖDER, H.: Über Filtration der Luft in Beziehung auf Gärung, Fäulnis und Kristallisation.
Ann. Chem. Pharm. 117, 273 (1861).
- SCHRÖDER, H. u. Th.v.Dusch: Über Filtration der Luft in Beziehung auf Fäulnis und Gärung.
Ann. Chem. Pharm. 89, 232 (1854).
- SCHWENKE, B.: Die keimfreie Filtration in Apothekenbetrieben.
Pharmaz. Ztg. 30, 439 (1931).
Sterilfiltration von Arzneilösungen mit Hilfe der Jenaer Glasfilter.
Dtsch.Apoth.Ztg. 52, 780 (1938).
- THOMANN, J.: Über die Herstellung keimfreier wässriger Arzneilösungen. Helv. Pharm.Acta 13, 39 (1938).
- WARNER, E.D., K.M. Brinkhaus, W.H. Seegers and H.D. Smith: Further Experience with the Use of Thrombin as a Hemostatic Agent. Proc.Soc. exp. Biol. 41, 655 (1939).

- WESTPHAL, O., O. Lüderitz, E. Eichenberger u. W. Keiderling:
 (1) Über bakterielle Reizstoffe.
 I. Mittlg. Ztg. Naturforsch. 7b, 536, (1952)
 " (2) Über bakterielle Reizstoffe, Z. Natur-
 forsch. 7b, 548 (1952).
 " (3) Über bakterielle Reizstoffe. Z. Natur-
 forsch. 7b, 594 (1952).
- WHITE: Sterilisation by Filtration.
 J. Pharmocol. 133, 355 (1934).

Für die Überlassung des Themas für
seine beratende Unterstützung bei der Durchführung
der Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. Kliewe
meinen besonderen Dank aussprechen.

Lebenslauf

Am 2.2.1936 wurde ich als Sohn des Reza Redjai und seiner Ehefrau Sekine Redjai in Isfahan/Iran geboren. Nach 9-jährigem Besuch der Golbahar-Grundschule wechselte ich 1951 auf das Hatef-Gymnasium über, an dem ich 1954 mein Abitur bestand. 1955 kam ich nach Deutschland und begann mein Medizinstudium an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz, wo ich im Oktober 1958 meine Ärztliche Vorprüfung und am 23.7.1962 mein Medizinisches Staatsexamen ablegte.

Vom 1.9.1962 - 30.6.1963 war ich als Medizinalassistent auf der chirurgischen Abteilung des Evgl Krankenhauses in Bochum-Linden tätig. Anschließend absolvierte ich am gleichen Hause auf der internen Abteilung zweieinhalb Monate meiner Medizinalassistentenzeit. Danach wechselte ich auf die interne Abteilung des St. Josef-Hospitals Bochum-Linden, wo ich bis zum 15.5.1964 tätig war. Die restlichen 4 Monate meiner Medizinalssistentenzeit arbeitete ich auf der gynäkologisch-geburtshilflichen Abteilung des St. Marien-Hospitals in Wettenscheid. Vom 15.9.1964 - 31.3.1965 war ich auf der o.g. Abteilung als Assistent, wo ich mit meiner Facharztausbildung begonnen habe.

Seit dem 1.4.1965 bin ich auf der gynäkologisch-geburtshilflichen Abteilung des St. Rochus-Hospital in Gestrop-Rauxel zwecks weiterer Ausbildung.



